

Microbiologie en odonto-stomatologie

H. Chardin
O. Barsotti
M. Bonnaure-Mallet



MALOINE

Chez le même éditeur :

Descroix V., Yasukawa K., *Les médicaments en odonto-stomatologie*. 2006.
Dorosz Ph., *Guide pratique des médicaments*. 2006.
Dorosz Ph., *Guide pratique des médicaments en cardiologie*. 2005.
Dorosz Ph., *Guide pratique des médicaments en neuro-psychiatrie*. 2005.
Grubwieser G.J., *Urgences au cabinet dentaire*. 2006.
Staïkowsky F et coll., *Guide poche des médicaments de l'urgence*. 2004.
Woelfel, *Anatomie et physiologie dentaires*. À paraître.

Illustrations : Guillaume Blanchet

Figures 1.32, 3.48, 3.49 : © Blackwell publishing

Figure 1.41 : © 2001 Massachusetts Medical society

Responsable d'édition : Valérie Laruelle-Bancel

Secrétaire d'édition : Laetitia Herin

Conception et mise en page : Nord Compo, Villeneuve-d'Ascq (59), France.

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L 122-5 2e et 3e alinéas, que les copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans le but d'exemple ou d'illustration, toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite (article L 122-4 du Code de la propriété intellectuelle).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L 335-2 et suivants du CPI.

Tous droits de reproduction, d'adaptation et de traduction réservés pour tous pays.

© 2006, Éditions Maloine, 27, rue de l'École-de-Médecine, 75006 Paris, France.

Dépôt légal : avril 2006 – ISBN : 2 224 02928 4

Achevé d'imprimer en France en mars 2006, par l'imprimerie Chirat, 42540 Saint-Just-la-Pendue.

MICROBIOLOGIE EN ODONTO-STOMATOLOGIE

Hélène CHARDIN
Odile BARSOTTI
Martine BONNAURE-MALLET

Collection dirigée par Jean-François d'Ivernois

MALOINE
27, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE, 75006 PARIS
2006

Hélène CHARDIN

Maître de conférences des Universités
Praticien hospitalier
Université Paris 5

Odile BARSOTTI

Maître de conférences des Universités
Praticien hospitalier
Université Lyon 1

Martine BONNAURE-MALLET

Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Université Rennes 1

Collaborateurs

Cécile BADET, Université de Bordeaux
Laurence BUNETEL, Université de Rennes 1
Marie-Hélène COTTET, Université Paris 7
Danielle DUFFAUT, Université de Toulouse
Patrick EXBRAYAT, Université de Lyon 1
Patrice GRACIEUX, Université de Rennes 1
Isabelle MADINIER, Université de Nice-Sophia Antipolis
Jean-Christophe MAURIN, Université de Lyon 1
Pierre MICHAILESCO, Université de Montpellier
Jean-Jacques MORRIER, Université de Lyon 1
Noélie THEBAUD, Université de Bordeaux
Pierre-Pascal POULET, Université de Toulouse
Béatrice RICHARD, Université de Bordeaux
Jean-Claude ROBERT, Université de Rennes 1
Valérie ROGER-LEROI, Université de Clermont-Ferrand
Jean-Louis SIXOU, Université de Rennes 1
Michel SIXOU, Université de Toulouse
Martine SOELL, Université de Strasbourg
Claude VILAIN, Université Paris 6
Kazutoyo YASUKAWA, Hôpital Louis Mourrier, AP-HP

Les auteurs remercient vivement tous ceux qui ont apporté leur énergie et leur générosité à cet ouvrage :
– Pierre-André Cousin et Dominique Décoret pour les illustrations, Céline Allaire et Christiane Péju pour la dactylographie.
– Le Dr Jean-Christophe Farge et le Pr Henry Magloire pour leurs généreux conseils sur les tissus dentaires.

Préface

Encore un livre de plus? Mais bien volontiers, s'il est pertinent... car de bons livres, il n'y en a jamais assez! Voici, lapidairement, le fond de ma pensée à propos de cet ouvrage, qui reflète de façon remarquable l'évolution de la dentisterie au cours de ces dernières décennies, pour aboutir à l'odonto-stomatologie moderne.

Le titre est quelque peu trompeur : car cet ouvrage ne se restreint pas qu'à la microbiologie, les auteurs ayant eu la bonne idée d'aborder celle-ci dans un contexte plus large. Il m'évoque un triptyque dont la partie centrale, l'écosystème buccal, serait encadrée par deux larges panneaux, l'un consacré aux agents microbiens, l'autre à la microbiologie clinique. En fait pour comprendre les maladies des dents et de la bouche, ainsi que les diverses pathologies infectieuses, la microbiologie est incontournable. Cet ouvrage en brosse un tableau très complet : la première partie consacrée aux agents microbiens va des bactéries jusqu'aux prions, en passant par les virus, les micromycètes et les zooparasites. La partie centrale, la plus courte, est consacrée à l'écosystème buccal. Elle donne une bonne description des biofilms en général, et buccaux en particulier, et évoque l'évolution de la flore buccale au cours de la vie. Les interactions flore-hôte sont également abordées sous leur aspect immunologique. Enfin, la troisième partie se rapporte à la microbiologie clinique : elle décrit les tests de diagnostic, s'étend sur la maladie carieuse, les infections du parodonte et les infections péri-implantaires, la microbiologie étant constamment reliée à la clinique. Les aspects médicaux les plus récents des infections bactériennes à porte d'entrée buccale sont évoqués, et un court chapitre consacré aux antibiotiques et antiseptiques conclut l'ouvrage. Ce livre de plus de 300 pages non seulement se lit facilement, mais en plus est structuré clairement. Les différents aspects, scientifiques et pratiques, d'un sujet abordé sont toujours décrits dans un ordre logique. Enfin si le texte prime, celui-ci s'appuie de façon indispensable sur des illustrations : tableaux récapitulatifs, schémas explicatifs, images cliniques et de microscopie.

Ce manuel est un ouvrage collectif, et notre trio d'auteurs a fait appel à une équipe de spécialistes compétents qui, de toute évidence, se sont consacrés à cet ouvrage avec enthousiasme. La matière traitée est présentée d'une manière vivante et avec un souci d'actualité, tous les chapitres étant suivis d'une bibliographie proposant des publications pour la plupart récentes.

Un bon livre saura non seulement former l'étudiant, mais également rester un guide précieux pendant sa vie professionnelle; ce manuel répond parfaitement à cette attente, et sera un bon compagnon qui nous rafraîchira la mémoire en cas de besoin, ou saura nous permettre de mieux comprendre les développements constants de la science odonto-stomatologique. Enfin, faisant fi de l'anglais, notre latin moderne, il est écrit en français... que peut-on souhaiter de plus? Je lui souhaite un succès bien mérité.

Professeur Jean-Pierre Bernimoulin

Berlin, février 2006

Liste des abréviations

- ADCC = *Antibody Dependant Cell Cytolysis*
 ALAT = alanine aminotransférase
 ARNr = acide ribonucléique ribosomal
 ATCC = *American Type Culture Collection*
 ATNC = agents transmissibles non conventionnels
 BALT = *Bronchus-Associated Lymphoid Tissues*
 BCR = *B Cell Receptor*
 BLAST = *Basic Local Alignment Search Tool*
 BMP = *Bone Morphogenetic Protein*
 BPN = *Bacteroidaceae* à pigmentation noire
 CD- = *Cluster of Differentiation*
 CLR = *C-type Lectin-like Receptor*
 CMB = concentration minimale bactéricide
 CMI = concentration minimale inhibitrice
 CPA = cellule présentant l'antigène
 mDC = *myeloid Dendritic Cell*
 pDC = *plasmacytoid Dendritic Cell*
 DC-SIGN = *Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule 3 Grabbing Nonintegrin*
 DMP = *Dentin Matrix Protein*
 EBV = *Epstein-Barr Virus*
 Eh = potentiel d'oxydo-réduction
 ELISA = *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
 ESB = encéphalopathie spongiforme bovine
 ESST = encéphalopathies subaiguës spongi-formes transmissibles
 FGF = *Fibroblast Growth Factor*
 FTF = fructosyltransférases
 GALT = *Gut-Associated Lymphoid Tissues*
 GBP = *Glucan Binding Protein*
 GTF = glycosyltransférases
 GUNA = gingivite ulcéro-nécrotique aiguë
 HAART = *Highly Active Anti-Retroviral Therapy*
 HACCEK = *Haemophilus influenzae, A. actinomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Capnocytophaga ochracea, Eikenella corrodens, Kingella kingae*
 HAV = *Hepatitis A virus*
 HBD = *Human β Defensin*
 HBV = *Hepatitis B Virus*
 HCMV = *Human Cytomegalovirus*
 HCV = *Hepatitis C Virus*
 HDV = *Hepatitis Delta Virus*
 HEV = *Hepatitis E Virus*
 HGV = *Hepatitis G Virus*
 HHV- = *Human Herpesvirus*
 HIV = *Human Immunodeficiency Virus*
 HLA = *Human Leucocyte Antigen*
 HPV = *Human Papilloma Virus*
 hsp = *Heat Shock Protein*
 HSV = *Herpes Simplex Virus*
 ICAM- = *Intercellular Adhesion Molecule*
 IFF = insomnie fatale familiale
 IFN- = interféron
 IJSB = *International Journal of Systematic Bacteriology*
 IJSEM = *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*
 IL- = interleukine
 KGF = *Keratinocyte Growth Factors*
 KIR = *Killer Ig-like Receptors*
 LBP = *LPS-Binding Protein*
 LC = *Langerhans Cell*
 LDH = lactate déshydrogénase
 LDL = *Low Density Lipoprotein*
 LTA = *Lipoteichoic Acid*
 LPAM- = *Lymphocyte Peyer's patch Adhesion Molecule* ou intégrine $\alpha 4\beta 7$
 LPS = lipopolysaccharide
 MAdCAM = *Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule*
 MALT = *Mucosa-Associated Lymphoid Tissues*
 MASP = *MBL-Associated Serine Protease*
 MBL = *Mannose-Binding Lectin*
 MCJ = maladie de Creutzfeldt Jacob
 MCP-1 = *Monocyte Chemotactic Protein-1*
 MEB = microscopie électronique à balayage
 MMP = *Matrix Metalloprotease*
 NALT = *Nasal-Associated Lymphoid Tissues*

NK = *Natural Killer*
Nod = *Nucleotid-binding oligomerization domain*
PAE = pellicule acquise exogène
PAL = parodontite agressive localisée
PAMP = *Pathogen-Associated Molecular Patterns*
PCR = *Polymerase Chain Reaction*
PDGF = *Platelet-Derived Growth Factor*
PLP = protéine liant les pénicillines
PNN = polynucléaires neutrophiles
PrP = protéine prion
PRP = protéines riches en proline
PRR = *Pattern-Recognition Receptors*
PUNA = parodontite ulcéro-nécrotique aiguë
RANK-L = *Receptor Activator of NF- κ B [nuclear factor kappa B] Ligand*
RT-PCR = *Reverse Transcriptase-PCR*
SGSS = syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker

SIDA = syndrome d'immunodéficience acquise
SOD = superoxyde dismutase
Spp. = *species plurales* (toutes les espèces ou plusieurs espèces du genre)
TALT = *eustachian Tube-Associated Lymphoid Tissues*
TCR = *T Cell Receptor*
TGF- = *Tumor Growth Factor*
TIMP = *Tissue Inhibitor of Metalloproteases*
TIR = *Toll/IL-1 Receptor Domain*
TK = thymidine kinase
TLR = *Toll-Like Receptors*
TNF = *Tumor Necrosis Factor*
VCAM = *Vascular Cell Adhesion Molecule*
VZV = varicelle-zona virus (ou varicella-zoster virus)

Table des matières

1. Les agents microbiens	1
Les principales bactéries de la flore buccale	2
Introduction	2
<i>Streptococcus</i>	8
<i>Lactobacillus</i>	17
<i>Actinomyces</i>	20
<i>Porphyromonas</i>	23
<i>Prevotella</i>	31
<i>Capnocytophaga</i>	36
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	39
<i>Fusobacterium</i>	44
Les spirochètes	49
Tableaux récapitulatifs des principaux genres bactériens de la flore buccale	52
Coloration de Gram des principaux genres bactériens de la flore buccale	61
Les virus	64
Introduction	64
Les Herpesvirus	65
Les papillomavirus humains (HPV)	76
Les virus de l'immunodéficience humaine (HIV)	77
Les virus responsables d'hépatites	86
Les micromycètes	101
<i>Candida</i>	101
Les champignons dimorphiques	105
<i>Aspergillus</i>	109
Les zooparasites	113
Introduction	113
Arthropodes	113
Les helminthes	115
Parasites eucaryotes	118
Les agents transmissibles non conventionnels (ATNC) ou prions	122
Généralités	122
Origine des ATNC	122
Propriétés physico-chimiques des ATNC et résistance	123
Rôle des PrP	124
Propagation	124
Physiopathologie	124
Formes cliniques	125
Diagnostic	126
Traitement	126
Épidémiologie	127
Prévention	128

2. Écosystème buccal	131
Présentation générale des biofilms	132
Formation d'un biofilm	132
Pourquoi former un biofilm ?	135
Quelques exemples de biofilms	137
Les biofilms buccaux	141
L'habitat microbien buccal	142
La flore buccale au cours de la vie	161
Colonisation primaire	161
Avant l'éruption des dents	162
Denture lactéale et denture mixte	163
Denture permanente	163
Stabilité des clones bactériens	164
Interactions flore-hôte	165
Introduction	165
L'exclusion immune	165
L'immunité muqueuse	174
3. Microbiologie clinique	193
Méthodes de diagnostic microbiologique	194
Diagnostic bactériologique	194
Diagnostic virologique	211
L'odontologie	214
Microbiologie de la maladie carieuse	214
Infections endodontiques et périapicales	239
Les infections du parodonte	256
Les maladies parodontales	256
Implants et bactéries buccales	278
Stomatites infectieuses	289
Infections virales	289
Les stomatites à micromycètes	295
Infections parasitaires	300
Les infections bactériennes à porte d'entrée buccale	304
Modalités de la dissémination bactérienne	304
Les infections bactériennes à porte d'entrée buccale	305
Les antibiotiques et les antiseptiques	315
Modes d'action des antibiotiques	315
La résistance bactérienne aux antibiotiques	317
Antibiothérapie et antibioprophylaxie en odonto-stomatologie	319
Les antiseptiques	321
Index	323

Les agents microbiens

Les principales bactéries	
de la flore buccale	2
Les virus	64
Les micromycètes	101

Les zooparasites	113
Les agents transmissibles	
non conventionnels (ATNC) ou prions	122

Les principales bactéries de la flore buccale

Introduction (O. Barsotti)

Classification des bactéries

Des études phylogéniques (études de l'évolution des organismes et des relations existant entre les organismes) effectuées en comparant les séquences des gènes codant pour les ARN ribosomiques (l'ARNr 16S diffère d'au moins 1,5 % entre 2 espèces d'un même genre) ont montré deux groupes différents d'organismes procaryotes : les eubactéries et les archéobactéries. Les différences entre eubactéries, archéobactéries et eucaryotes sont tellement importantes que trois règnes sont actuellement proposés :

- le règne des *Eucarya* = eucaryotes (les plantes, les animaux et les eucaryotes unicellulaires) ;
- le règne des *Archaea* : caractères communs aux eucarya et aux bacteria ;
- le règne des *Bacteria*, ex-eubactéries.

Définition et morphologie des bactéries

Ce sont des cellules autonomes, capables de se multiplier dans un environnement adapté, ce qui les différencie des virus qui sont des parasites obligatoires.

Leur forme et leur taille diffèrent d'un(e) espèce/genre à l'autre mais, au sein d'une espèce les cellules sont assez semblables (dépendent des conditions de culture). Elles sont de forme sphérique (coques ou cocci de forme ovoïde, réniforme, ronde) ou bacillaire (fusiformes aux extrémités effilées type *Fusobacterium*), coccobacillaire, incurvée (*Vibrio*, *Campylobacter*), spiralée (*Leptospira*, *Treponema*), filamenteuse. Elles mesurent de 0,2 µm (*Chlamydia*) à 250 µm (Spirochètes), avec une moyenne de 1 à 10 µm. Elles sont isolées ou en groupements caractéristiques (paires, amas irréguliers, chaînes...) selon leurs modes de division. Dans la nature, la plupart des bactéries forment des consortia appelés biofilms.

Structure et composition

L'ultra-structure et la composition chimique des bactéries varient d'une espèce à l'autre.

L'appareil nucléaire = nucléoïde

Visible au microscope optique après coloration spécifique du désoxyribose (coloration de Feulgen), l'appareil nucléaire forme un corpuscule dense appelé nucléoïde. Il n'a pas de membrane nucléaire. Il est composé de 60 à 80 % d'ADN, 10 % d'ARN et 10 % de protéines. Le chromosome bactérien est composé d'ADN bicaténaire, circulaire, mille fois plus long que la bactérie (*E. coli* = 1,3 mm) car l'ADN est comprimé en multiples boucles, maintenu par de l'ARN et des protéines. Des protéines enzymatiques (ADN et ARN polymérases) sont fixées sur l'ADN. Lors de la division bactérienne, le chromosome est dupliqué et chaque copie constitue le chromosome de chacune des cellules filles.

Les plasmides sont des molécules d'ADN circulaires double brin, beaucoup plus petits que le chromosome (quelques centièmes à plus de un dixième), situés dans le cytoplasme. Ils peuvent se répliquer de façon autonome. Les plasmides sont, en général, transmis aux bactéries filles, mais peuvent aussi être transmis d'une espèce à l'autre par de multiples mécanismes. Les gènes portés par les plasmides sont très divers : gènes structuraux (*fimbriae*), gènes impliqués dans le métabolisme des sucres, gènes de production de toxines, gènes de résistance aux antibiotiques. Certains plasmides n'ont pas encore de fonction connue. Une même bactérie peut contenir aucun plasmide, plusieurs copies du même

plasmide, ou plusieurs types de plasmides différents. Les plasmides ne sont pas indispensables à la cellule-hôte, même s'ils codent pour des fonctions utiles, mais ils peuvent apporter des caractères permettant la survie dans des conditions défavorables ou permettant d'étendre son écosystème.

Le cytoplasme

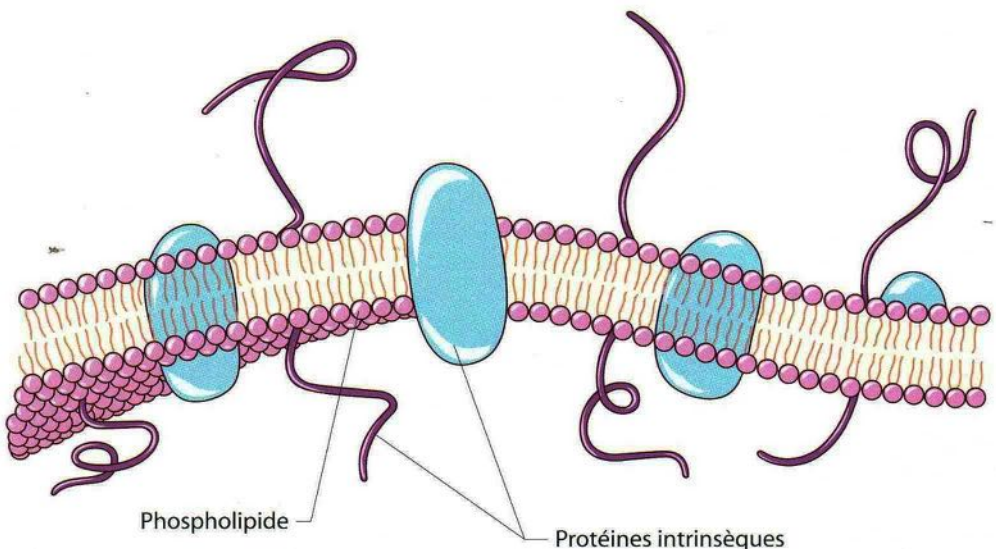
C'est un fluide aqueux qui contient de nombreux ribosomes, des éléments nutritifs, des ions, des enzymes, des déchets, des granules de réserve et diverses molécules impliquées dans les synthèses, l'entretien cellulaire et le métabolisme énergétique.

Les ribosomes, corpuscules arrondis minuscules (0,025 nm), faits d'ARNr et de protéines, sont le site de synthèse des protéines. Ils sont caractérisés par leur vitesse de sédimentation (mesurée en unité Svedberg = S). Chaque ribosome bactérien (70S) est composé d'une sous-unité 50S et d'une sous-unité 30S maintenues ensemble par des liaisons H₂ et des interactions ioniques. 70 % du ribosome sont composés d'ARNr, qui se mesure aussi en Svedberg. La sous-unité 30S contient l'ARNr 16S et, la sous-unité 50S contient les ARNr 5S et 23S. Les protéines ribosomiques (protéines r) représentent 30 % de la masse d'un ribosome. Différents antibiotiques (phénicol, aminosides, tétracyclines, synergistines, macrolides, lincosamides et acide fusidique) perturbent la synthèse des protéines au niveau des ribosomes.

La membrane plasmique

Située sous la paroi, elle est formée d'une double couche de phospholipides et de protéines (Figure 1.1). C'est une barrière perméable, responsable des échanges entre la bactérie et le milieu extérieur. Elle permet des transferts passifs (barrière osmotique), mais elle contient aussi des systèmes de transport, les perméases, qui assurent la pénétration active et sélective de certaines substances nutritives (sucres, acides aminés, ions, minéraux...) et l'élimination des déchets. Diverses substances antimicrobiennes (antiseptiques cationiques, phénols, antibiotiques polypeptidiques) agissent à son niveau.

Figure 1.1 : membrane plasmique d'une bactérie.



La paroi cellulaire

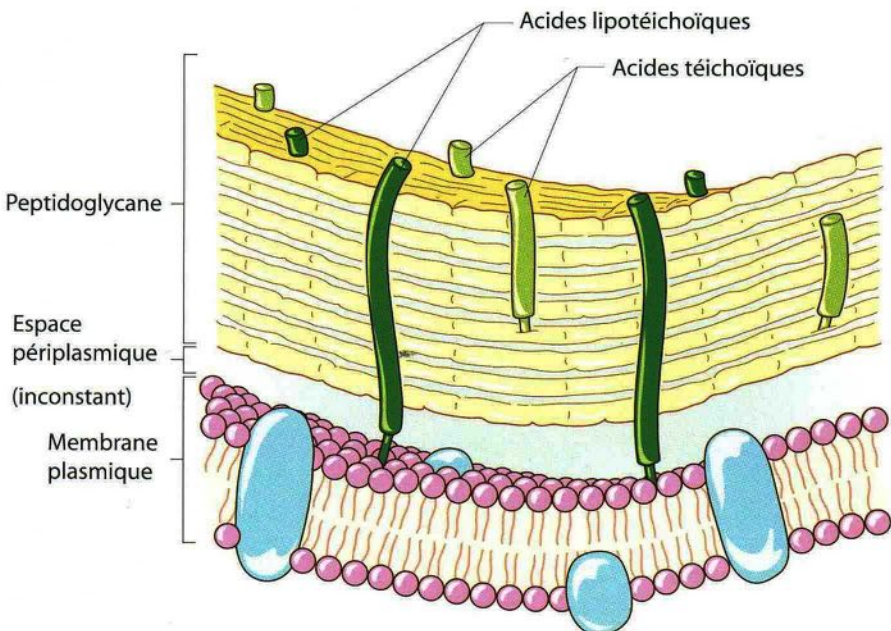
La paroi est une enveloppe rigide qui protège la bactérie vis-à-vis des variations osmotiques. Elle agit comme une barrière de perméabilité. Toutes les bactéries ont une paroi sauf les mycoplasmes. La structure et la composition de la paroi sont différentes d'une espèce à l'autre, mais globalement, chez les bactéries, il y a deux grands types de paroi : à Gram positif et à Gram négatif, qui ont un polymère commun : le peptidoglycane. Le peptidoglycane est composé de chaînes polysaccharidiques (N-acétylglucosamine et acide N-acétylmuramique) reliées entre elles par de courts peptides branchés sur l'acide muramique. Il est sensible au lysozyme, qui découpe les chaînes glucidiques quand elles sont accessibles (Gram⁺), aux antibiotiques (bêta-lactamines, glycopeptides, fosfomycine), aux désinfectants (phénol) et il est antigénique.

Paroi des bactéries à Gram positif

C'est une paroi relativement épaisse (30 à 300 nm) constituée essentiellement par le peptidoglycane (40 à 80 % de la paroi) (Figures 1.2a et 1.2b). Les autres constituants sont les acides teichoïques (polymères de ribitol ou de glycérol et de phosphore, branchés sur la N-acétylglucosamine) et les acides lipoteichoïques (LTA). Les LTA sont des polymères de glycérol et de phosphore fixés par un lipide (domaine lipidique hydrophobe) dans la membrane cytoplasmique. Ils traversent la paroi et s'étendent un peu au-delà (domaine glucidique, hydrophile, qui émerge de la paroi, chargé négativement). Les LTA interviennent dans l'adhérence aux cellules/bactéries. Les polysaccharides neutres fixés sur la paroi sont responsables de la spécificité antigénique des bactéries, et sont utilisés pour l'identification infraspécifique. Les protéines sont surtout des enzymes.

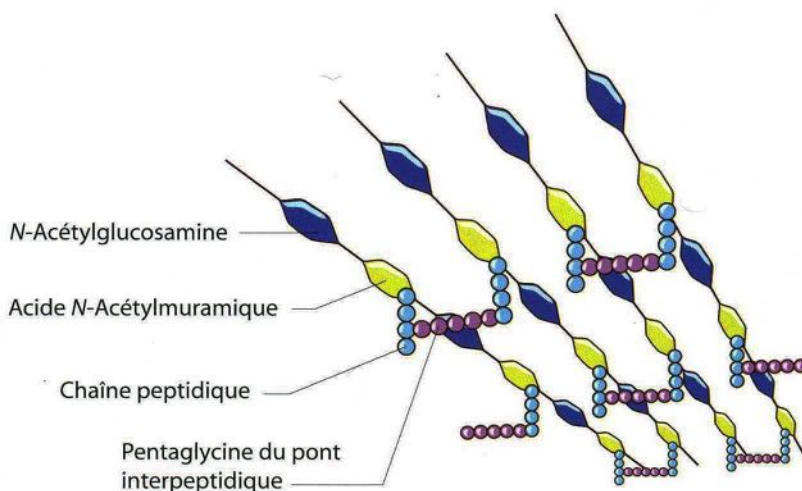
Figure 1.2 :

a) Paroi d'une bactérie à Gram positif.



Les mycobactéries sont des bactéries à Gram positif possédant un peptidoglycane mais recouvert de lipides (acides mycoliques et cires = 60 % de la paroi). Cette couche externe explique leur résistance dans l'environnement et leur sensibilité différente aux antibiotiques : isoniazide, pyrazinamide et éthambutol. La coloration de Ziehl est préférable à la coloration de Gram pour les mycobactéries.

b) Peptidoglycane.



Paroi des bactéries à Gram négatif

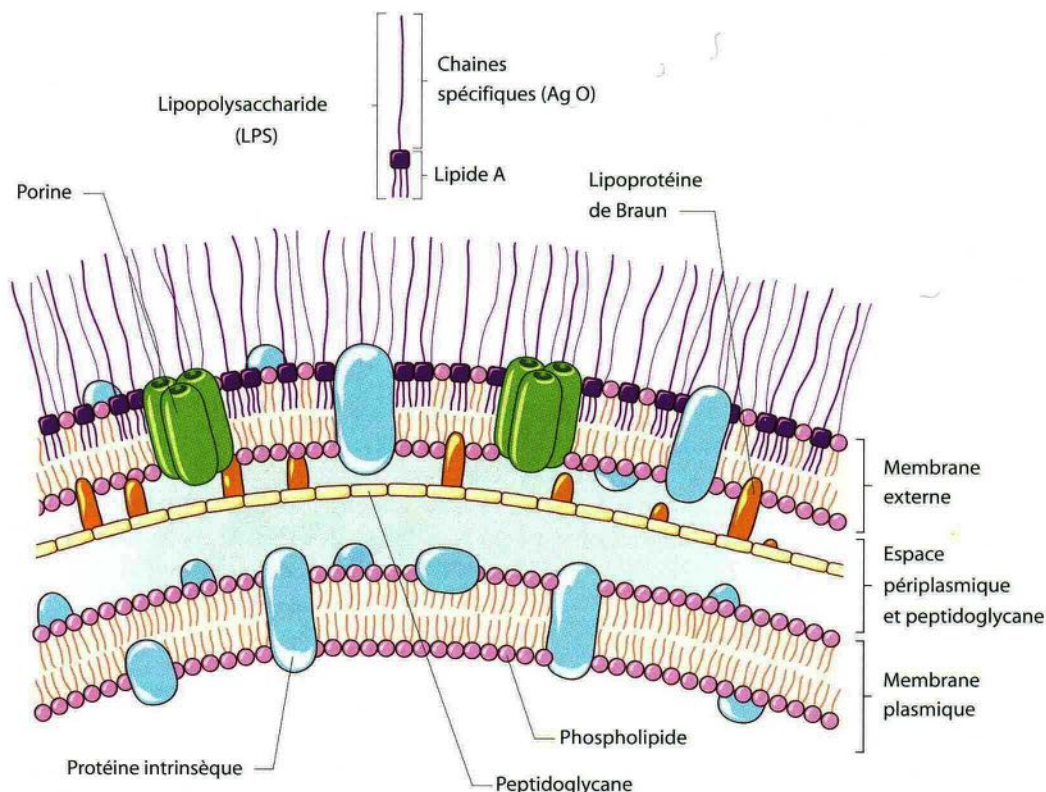
Son épaisseur est de 20 à 30 nm. La couche interne, près de la membrane cytoplasmique, très hydrophile, est un peptidoglycane peu dense (espace périplasmique) recouvert par un peptidoglycane plus dense. La couche externe de la paroi, dite membrane externe, est essentiellement une bicouche lipidique contenant des protéines.

La couche lipidique interne est faite de phospholipides, et la couche lipidique externe se compose de macromolécules appelées lipopolysaccharides (LPS) (Figure 1.3). Le LPS comprend le lipide A et les chaînes polysaccharidiques.

Le lipide A, souvent assimilé au LPS, est un lipide complexe couplé à la glucosamine et à des résidus phosphores. Il possède de nombreuses activités biologiques qui dépendent de sa concentration. À petite dose, il active une série d'événements immunologiques et biochimiques qui alertent le système de défense de l'hôte. Le LPS « avertit » de la présence de bactéries dans les tissus. À forte dose, le lipide A peut provoquer un état de choc, voire la mort. Cet effet toxique explique l'appellation d'endotoxine du LPS. Les chaînes polysaccharidiques forment la portion externe de la paroi. Ces polysaccharides sont spécifiques de sous-espèces ou de types et comportent des sucres originaux (antigènes O).

Les protéines représentent la moitié de la masse de la membrane externe. Parmi elles, les porines d'un même type se groupent par 2 ou 3 pour former des « canaux » remplis d'eau, qui traversent toute l'épaisseur de la membrane externe. La membrane externe est perméable aux petits ions et aux petites molécules hydrophiles, mais beaucoup moins perméable, voire imperméable, aux molécules hydrophobes ou amphipathiques. Les antiseptiques tensio-actifs et les antibiotiques polypeptidiques ont une action sur les bactéries à Gram négatif.

Figure 1.3 : paroi d'une bactérie à Gram négatif.



Les composants externes de la paroi cellulaire

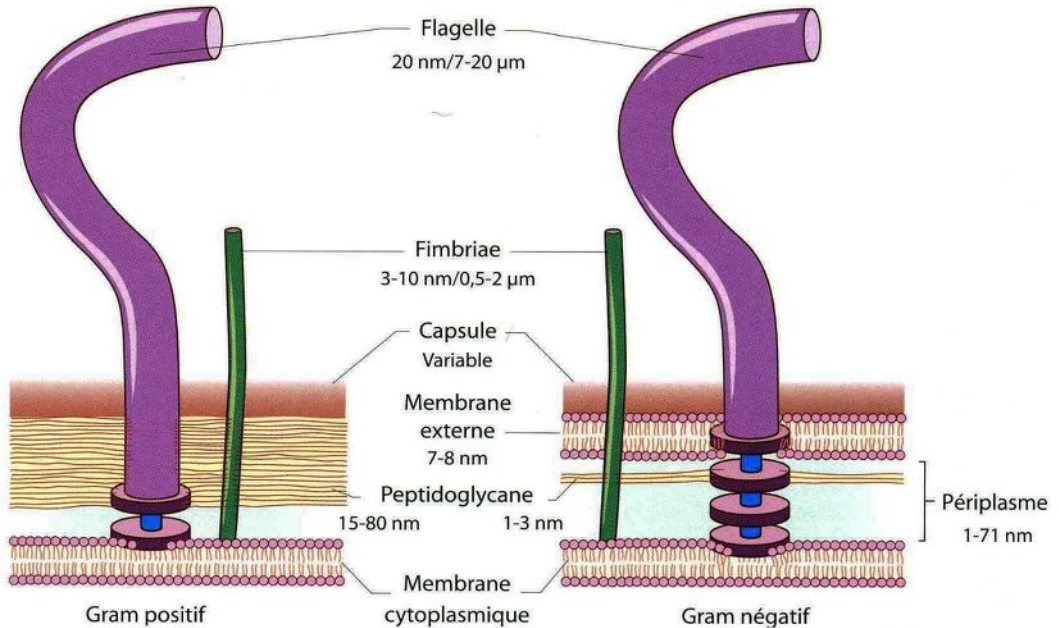
Capsule/Glycocalyx

Le glycocalyx serait un réseau de polysaccharides recouvrant la surface des bactéries et d'autres cellules voisines et comprendrait à la fois capsules et couches mucoïdes. Ces polymères sont très fréquents, constants pour les bactéries vivant en biofilm dans les conditions naturelles. Ils protègent les bactéries du biofilm de la dessiccation et de l'action des antiseptiques, des désinfectants et des antibiotiques. Ils constituent une réserve nutritive. Ils permettent l'attachement des bactéries aux cellules (cellules des épithéliums respiratoires, buccaux...), aux bactéries et à des supports inertes (cathéters, prothèses, émail dentaire...).

Flagelles

Présents chez les G⁺ et les G⁻, ils sont attachés à la membrane plasmique et traversent la paroi au niveau d'une structure complexe assurant l'étanchéité de la bactérie lors de mouvements tournants de la tige (Figure 1.4). Leur nombre et leur disposition varient suivant les espèces. Les flagelles sont constitués de protéines (flagelline). Ils assurent la mobilité de la bactérie. Ils permettent aux bactéries de se déplacer dans un milieu liquide. C'est un avantage écologique pour les bactéries qui pourront se rendre rapidement vers une meilleure source nutritive ou s'éloigner de substances nocives.

Figure 1.4 : insertion des *fimbriae* et flagelles sur la membrane plasmique de bactéries à Gram positif et à Gram négatif.



Fimbriae (Pilis communs)

Ils sont présents chez les G+ et les G- (surtout chez les G-). Ils peuvent se répartir sur toute la surface de la cellule ou être plus localisés. Ce sont de très fins filaments (3 à 10 nm de diamètre sur quelques microns de long) qui prennent naissance dans la membrane plasmique et s'étendent dans le milieu extérieur (Figure 1.4). Ils ne sont pas impliqués dans le mouvement. Ils sont constitués de protéines structurales majeures appelées fimbriines/pilines, et de protéines mineures appelées adhésines parfois situées à la pointe du *fimbriae* et responsables de l'attachement irréversible de la bactérie à son support. Les *fimbriae* jouent un rôle important dans l'adhésion des cellules entre elles ou à une surface, grâce à leur hydrophobicité et à la présence d'adhésines. Ils établissent un pont entre la bactérie et la surface à coloniser même quand elle est à distance; les adhésines peuvent alors intervenir pour maintenir le contact et permettre éventuellement à d'autres adhésines d'entrer en jeu.

Pilis sexuels

Ils sont peu nombreux, longs, creux et interviennent dans les phénomènes de conjugaison bactérienne. Ils sont codés par des plasmides. Ils permettent l'arrimage des bactéries pour leur permettre d'échanger leur matériel génétique (parfois des gènes de virulence).

L'endospore

Certaines espèces bactériennes forment des endospores, appelées ainsi car elles se forment à l'intérieur d'une cellule végétative, quand elles sont dans des conditions défavorables. Ces formes de vie peuvent résister indéfiniment au froid, à la dessiccation (plusieurs heures à 100 °C), au temps (plusieurs siècles). Quand des conditions favorables se présentent à nouveau, la spore redonne des bactéries.

végétatives. Les spores sont thermorésistantes et résistent à certains antiseptiques. Elles résistent naturellement aux antibiotiques car elles sont métaboliquement inactives.

Physiologie et croissance bactériennes

La cellule bactérienne a besoin de nutriments (sucres, acides gras, alcool, diverses substances organiques, acides aminés, eau...) pour satisfaire ses besoins constitutifs et énergétiques. Chaque espèce bactérienne a une température et un pH optima de croissance. Selon que les espèces bactériennes ont un métabolisme respiratoire (respiration aérobie) ou fermentatif, on distingue :

- Les bactéries aérobies strictes qui ne peuvent pas se passer d'oxygène pour croître.
- Les bactéries anaérobies strictes qui ne croissent qu'en absence d'oxygène. Leur tolérance à l'oxygène est variable et leur survie peut varier de quelques secondes (bactéries extrêmement sensibles à l'oxygène ou EOS) à quelques heures. Des anaérobies strictes peuvent être présentes dans des habitats qui paraissent aérobies, si elles sont associées à des anaérobies facultatives qui consomment l'oxygène et permettent ainsi leur croissance.
- Les bactéries anaérobies facultatives ou aérobies-anaérobies facultatives croissent normalement en présence d'oxygène, mais peuvent se développer en anaérobiose.
- Les bactéries aérobies facultatives ou bactéries aérotolérantes croissent normalement en anaérobiose mais peuvent se développer en présence d'air.
- Les bactéries microaérophiles ont une croissance optimale à des concentrations en oxygène plus basses que celle de l'air (par exemple 5 % au lieu de 20 %).

Streptococcus (V. Roger-Leroi)

Considérations taxonomiques

Les streptocoques appartiennent à la famille des *Streptococcaceae* regroupant les cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase, ne réduisant pas les nitrates et résistants aux aminosides. C'est une famille très vaste regroupant plus de 95 espèces et sous-espèces classées en sept genres : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactococcus*. La classification du genre *Streptococcus* a beaucoup évolué depuis 15 ans avec la mise au point de techniques moléculaires comme l'hybridation ADN-ADN ou le séquençage de la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal. Avant l'apparition de ces techniques, elle se faisait principalement en fonction de trois critères :

L'hémolyse entourant les colonies sur gélose au sang

Certains streptocoques sont capables de sécréter des substances pouvant lyser les érythrocytes humains ou de diverses espèces animales. Cette observation a permis, dès 1903, une classification des streptocoques basée sur le type d'hémolyse entourant les colonies sur gélose au sang de mouton ou de cheval :

- Streptocoques β -hémolytiques : zone large de lyse franche tout autour de la colonie.
- Streptocoques α -hémolytiques : zone étroite de lyse floue et partielle donnant une coloration verdâtre du milieu (d'où le nom de streptocoques viridans).
- Streptocoques non hémolytiques.

Le terme streptocoques viridans a longtemps été considéré comme synonyme de streptocoques buccaux bien qu'il existe une grande hétérogénéité autant sur le plan biochimique que sérologique au sein de ce groupe. On sait désormais que ces deux termes ne sont pas équivalents puisque des espèces β -hémolytiques ou non hémolytiques ont été décrites au sein de l'écosystème buccal. De plus,

Tableau 1.1 :
classification des
streptocoques en
ensembles et sous-
ensembles (d'après
Schlegel et Bouvet
dans Freney et coll.,
2000).

Ensemble	Sous-ensemble	Espèces
Streptocoques pyogènes	Py1	<i>S. pyogenes</i>
	Py2	<i>S. agalactiae</i>
	Py3	<i>S. canis</i>
		<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
		<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>
		<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>
		<i>S. equi</i> subsp. <i>ruminatorum</i>
		<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>
	Py4	<i>S. parauberis</i>
		<i>S. porcinus</i>
		<i>S. uberis</i>
	Py5	<i>S. hyointestinalis</i>
		<i>S. iniae</i>
		<i>S. phocae</i>
Streptocoques oraux	Or 1 (groupe mitis)	<i>S. australis</i>
		<i>S. cristatus</i>
		<i>S. gordonii</i>
		<i>S. infantis</i>
		<i>S. mitis</i>
		<i>S. oligofermentans</i>
		<i>S. oralis</i>
		<i>S. parasanguinis</i>
		<i>S. peroris</i>
		<i>S. sanguinis</i>
	Or 3	<i>S. pneumoniae</i>
	Or 4 (groupe anginosus)	<i>S. anginosus</i>
		<i>S. constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>
		<i>S. constellatus</i> subsp. <i>pharyngis</i>
		<i>S. intermedius</i>
	Or 5 (groupe mutans)	<i>S. criceti</i>
		<i>S. devriesei</i>
		<i>S. downei</i>
		<i>S. ferus</i>
		<i>S. macacae</i>
		<i>S. mutans</i>
		<i>S. orisratti</i>
		<i>S. ratti</i>
		<i>S. sobrinus</i>
	Or 6	<i>S. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>
		<i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
		<i>S. vestibularis</i>
Streptocoques du groupe D		<i>S. alactolyticus</i>
		<i>S. bovis</i> = <i>S. equinus</i>
		<i>S. gallolyticus</i>
		<i>S. infantarius</i>
		<i>S. intestinalis</i>
		<i>S. macedonicus</i>
Autres streptocoques		<i>S. acidominimus</i>
		<i>S. hyovaginalis</i>
		<i>S. suis</i>
		<i>S. thoraltensis</i>

NB : le sous-ensemble Or2 a été individualisé comme un nouveau genre *Abiotrophia*

Tableau 1.2 : classification actuelle des streptocoques oraux.

Groupes	Espèces	% G+C	Antigène de groupe	Sérotypes	Hémolyse
salivarius	<i>S. salivarius</i>				
	subsp. <i>salivarius</i>	37-40	K ou ng		γ - α - β
	subsp. <i>thermophilus</i>	37-40	K ou ng		γ - α - β
	<i>S. vestibularis</i>	38-41	K ou ng		γ - α
mutans	<i>S. criceti</i> *	42-44	ng	a	γ - α
	<i>S. devriesei</i>		nd		
	<i>S. downei</i> **	41-42	ng	h	α - γ
	<i>S. ferus</i> **	43-45	ng	c	α - γ
	<i>S. macacae</i> **	35-36	ng	c	α - γ
	<i>S. mutans</i>	36-38	E ou ng	c, e, f	α - γ
	<i>S. orisratti</i> **	39-44	A		α
	<i>S. ratti</i> *	41-43	ng	b	α - γ
	<i>S. sobrinus</i>	44-46	ng	d, g	γ - α
anginosus	<i>S. anginosus</i>	38-40	A, C, F, G ou ng		α - γ - β
	<i>S. constellatus</i>				
	subsp. <i>constellatus</i>	37-38	A, C, F, G ou ng		α - γ - β
	subsp. <i>pharyngis</i>	35-37	C		β
	<i>S. intermedius</i>	37-38	C, F, G ou ng		α - γ - β
mitis	<i>S. australis</i>				α
	<i>S. cristatus</i>	43	ng		α - γ
	<i>S. gordonii</i>	38-43	H ou ng		α - γ
	<i>S. infantis</i>	40	nd		α
	<i>S. mitis</i>	40-41	K, O ou ng		α - γ
	<i>S. oligofermentans</i>				α
	<i>S. oralis</i>	38-42	K, O ou ng		α - γ
	<i>S. parasanguinis</i>	41-43	B, C, G, F ou ng		α - γ
	<i>S. peroris</i>	40-41	nd		α
	<i>S. sanguinis</i>	40-46	H ou ng		α - γ
	<i>S. pneumoniae</i>	36-37	capsule		α

* Occasionnellement chez l'homme ; ** seulement chez l'animal ; nd = non déterminé ; ng = non groupable

certaines espèces désignées comme appartenant aux streptocoques viridans n'ont pas comme habitat la cavité buccale.

La recherche du type d'hémolyse est donc utile pour orienter le diagnostic (en particulier pour les streptocoques β -hémolytiques) mais reste insuffisant comme seul critère de classification. En effet, une même espèce peut comporter des souches à profil lytique différent.

Le groupe de Lancefield

Rebecca Lancefield a mis en évidence un polyside immunogénique appelé polyside C au niveau de la paroi de nombreux streptocoques. Dix-neuf sérogroupes distincts ont été décrits. Ils ont été

désignés par des lettres de A à H et de K à V. Pour les groupes D et N, les antigènes spécifiques de groupe sont des acides teichoïques. Les espèces, dépourvues de polyoside C, sont dites « non groupables ». C'est le cas de la plupart des espèces buccales bien que certaines espèces ou souches expriment parfois les polyosides de groupe A, C, E, F ou G.

De nombreux streptocoques appartenant à un groupe donné sont cependant taxonomiquement hétérogènes. C'est pourquoi un groupe donné comporte souvent plusieurs espèces ou biotypes.

Les propriétés physiologiques ou biochimiques

Les différents tests utilisés pour l'identification des streptocoques sont :

- la fermentation de divers sucres ;
- l'action sur certains substrats (tellurite de potassium par exemple) ;
- l'aptitude à se multiplier dans des conditions hostiles (température, milieu hypersalé...) ;
- la sensibilité à divers agents antibactériens.

Une classification reposant sur une combinaison de ces trois critères (type d'hémolyse, séro groupe de Lancefield et propriétés physiologiques et biochimiques) est encore aujourd'hui largement acceptée. Les streptocoques sont actuellement classés en « ensembles » et « sous-ensembles ». On distingue quatre ensembles : les streptocoques pyogènes, les streptocoques du groupe D, les streptocoques oraux et les streptocoques non classés (Tableau 1.1). Les streptocoques oraux sont divisés en quatre groupes phylogéniques selon la comparaison des séquences de l'ARNr 16S (Tableau 1.2) :

- le **groupe anginosus** (*S. anginosus*, *S. constellatus* subsp *constellatus*, *S. constellatus* subsp *pharyngis*, *S. intermedius*), autrefois appelé milleri ;
- le **groupe mitis** (*S. australis*, *S. cristatus*, *S. gordonii*, *S. infantis*, *S. mitis* biovars 1 et 2, *S. oligofermentans*, *S. oralis*, *S. parasanguinis*, *S. peroris*, *S. sanguinis*) ;
- le **groupe mutans** (*S. criceti*, *S. devriesei*, *S. downei*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. mutans*, *S. orisratti*, *S. ratti*, *S. sobrinus*) ;
- le **groupe salivarius** (*S. salivarius*, *S. vestibularis*).

Écologie et habitat

La majeure partie des streptocoques (à l'exception des groupes A, C et G considérés comme des micro-organismes pathogènes) fait partie de la flore commensale des cavités naturelles (rhinopharynx, cavité buccale, tractus digestif, voies génitales). Ces micro-organismes sont capables d'adhérer aux cellules épithéliales de l'hôte et colonisent donc les muqueuses et la peau. Du fait de leur présence dans la flore microbienne commensale, ils jouent un rôle non négligeable dans l'équilibre écologique de cette flore et dans l'acquisition de l'immunité naturelle non spécifique. Dans certaines circonstances, ces micro-organismes commensaux deviennent pathogènes opportunistes et peuvent être responsables d'infections, notamment de septicémies et d'endocardites.

Certaines espèces sont présentes dans le lait et chez certaines plantes. D'autres sont utilisées comme ferments dans la fabrication des fromages.

Isolement

Les streptocoques, et plus particulièrement ceux du groupe A, sont des micro-organismes fragiles dans le milieu extérieur. Les prélèvements (gorge, sérosité, pus ou sécrétions) devront donc être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire et ensemencés (dans les deux heures qui suivent le prélèvement). Un examen direct en microscopie oriente le diagnostic et permet de choisir le milieu adapté (enrichi ou sélectif en cas de flore polymorphe).

Des méthodes de diagnostic rapide sont maintenant disponibles et mettent en évidence certains antigènes ou enzymes bactériens directement à partir du prélèvement. Ces techniques ont été plus particulièrement développées pour mettre en évidence l'implication des streptocoques de groupe A au niveau des prélèvements de gorge et réduire de ce fait le recours systématique à l'antibiothérapie. La culture se fait sur milieu au sang frais.

Des techniques moléculaires peuvent également être utilisées pour l'identification des streptocoques (sondes oligonucléotidiques, ribotypie, amplification enzymatique au hasard ou RAPD...).

Caractères bactériologiques

Morphologie

Les streptocoques se présentent sous la forme de cocci ovoïdes ou sphériques à Gram positif dont le diamètre est inférieur à 2 µm. Ils sont groupés en chaînettes de longueur variable (de 2 à plus de 50 éléments). La division cellulaire se fait dans un seul plan avec séparation incomplète des deux cellules filles constituant ainsi des paires (*S. pneumoniae*) ou des chaînettes de longueur variable c'est pourquoi les bactéries sont souvent rapprochées en diplocoques au sein de la chaînette.

Ce sont des micro-organismes immobiles et asporulés. Certaines espèces possèdent une capsule de forme S (*smooth* des pneumocoques) ainsi que certaines cultures jeunes des souches de groupe A et C.

Caractères cultureux

Les streptocoques ont des capacités de synthèse limitées, ils ont donc des besoins nutritifs complexes pour leur croissance. Leurs milieux de culture sont riches en protéines (ascite, sang, peptones, extraits de viande) ou en acides aminés. Ils ont également besoin de facteurs de croissance, de glucose et de certains minéraux. Les streptocoques sont le plus souvent cultivés sur gélose au sang. Étant dépourvus de catalase, ils ne peuvent dégrader l'eau oxygénée, produit final du métabolisme de l'oxygène qui leur est toxique. L'adjonction de sang dans le milieu est donc utile grâce à l'action catalasique de l'hémoglobine.

Les streptocoques des groupes B et D présentent, en culture en milieu liquide, un aspect homogène avec ou sans dépôt alors que ceux des groupes A, C et G présentent un aspect granulaire avec dépôt et un surnageant clair ou légèrement trouble. Sur milieu solide, les colonies, d'environ 1 mm de diamètre, sont blanches ou grises d'aspect mat muqueux ou lisse.

Les streptocoques peuvent croître en présence d'oxygène sans l'utiliser, ni être tués par lui : ce sont donc des micro-organismes anaérobies aérotolérants.

Par contre, ce sont des micro-organismes acidotolérants qui vont pouvoir se développer à des pH relativement bas (jusqu'à pH 5) entraînés par la production d'acide lactique. Ce caractère leur confère un avantage écologique évident par rapport à d'autres espèces bactériennes.

La température optimale de croissance se situe entre 35 et 37°C.

Les streptocoques résistent à certains agents antimicrobiens tels que l'azoture de sodium, le cristal violet, l'acide nalidixique, les polymyxines ainsi que les aminosides. Ceci a permis la mise au point de milieux de culture sélectifs.

Le milieu de culture utilisé pour les streptocoques oraux est le milieu gélosé de Columbia, supplémenté avec du sang de mouton (5%). Les streptocoques des groupes mitis et mutans peuvent être cultivés sur le milieu Mitis Salivarius (Difco), enrichi en saccharose. Ce même milieu, enrichi en saccharose (20%) et en bacitracine (0,2 UI/mL) devient sélectif pour les streptocoques du groupe mutans.

Caractères biochimiques

Les streptocoques ne produisent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase : ils sont donc incapables de synthétiser l'hème. Ces caractéristiques permettent d'orienter le diagnostic bactériologique et de les différencier d'autres genres bactériens.

La synthèse d'ATP, source d'énergie bactérienne, est assurée par la dégradation du glucose par la voie homofermentaire d'Embden-Meyerhof avec production d'acide lactique.

Les tests biochimiques pour identifier les streptocoques oraux comprennent des tests enzymatiques, la recherche d'une sialidase et d'une IgA protéase, la production d'acides organiques à partir de différents sucres et l'hydrolyse de différents substrats (arginine, hippurate, esculine...). Des tests sont commercialisés actuellement permettant une identification rapide. Cependant, ces galeries ne permettent pas toujours d'identifier les espèces nouvellement caractérisées et des tests supplémentaires sont parfois nécessaires.

Pouvoir pathogène

Certaines espèces de streptocoques, tels *S. pyogenes* ou *S. pneumoniae*, sont des pathogènes « obligatoires ». D'autres espèces appartenant habituellement à la flore commensale peuvent devenir pathogènes « opportunistes » dans certaines circonstances. C'est le cas des streptocoques oraux à l'origine de la carie ou d'endocardites.

Streptocoques des groupes A, C et G

L'espèce *S. pyogenes*, streptocoque du groupe A strictement associé à l'espèce humaine, est responsable à elle seule de 90 % des infections streptococciques chez l'homme. Elle est à l'origine :

- d'infections aiguës suppurées qui peuvent être invasives ou non. Les infections non invasives représentent plus de 80 % des infections à *S. pyogenes* : ce sont des angines et pharyngites, des infections cutanées, des otites, des vulvo-vaginites. Les infections sévères et invasives sont plus rares : ce sont des érysipèles, des cellulites et fasciites, des septicémies, des pleuro-pneumopathies, des arthrites, des péritonites, des ostéomyélites ;
- d'infections aiguës spécifiques : la scarlatine est due à la sécrétion d'une toxine érythrogène par des streptocoques du groupe A lysogénisés par un bactériophage. Elle peut conduire à un syndrome de choc toxique ;
- de complications non suppuratives et qui surviennent à distance de l'infection aiguë : rhumatisme articulaire aigu avec atteintes articulaires, cutanées et surtout cardiaques, glomérulonéphrite aiguë, érythème noueux et purpura rhumatoïde, chorée de Sydenham (danse de Saint Guy).

Les infections dues aux streptocoques des groupes C et G sont essentiellement les infections aiguës non spécifiques décrites précédemment. Les infections pharyngées induites par les streptocoques des groupes C et G peuvent être suivies de glomérulonéphrites post-streptococciques mais jamais de rhumatisme articulaire aigu.

Streptocoques du groupe B

Ces micro-organismes sont des commensaux des appareils digestif et génito-urinaire ainsi que des voies respiratoires supérieures. Des infections sévères précoces ou tardives sont décrites tout particulièrement chez le nouveau-né. Les premières sont dues à une contamination materno-fœtale avant ou pendant l'accouchement (apnée, septicémie, signes neurologiques, respiratoires ou cutanés, méningite). Les deuxièmes sont dues à une contamination iatrogène du nouveau-né après l'accouchement. Chez

l'adulte, les streptocoques du groupe B (*S. agalactiae* en particulier) sont responsables d'infections variées : infections cutanées, urinaires ou génitales, septicémies, arthrites septiques, ostéomyélites, pneumopathies et endocardites aiguës.

Streptocoques du groupe D

Ces micro-organismes sont des commensaux de l'intestin chez l'homme et chez l'animal, mais peuvent devenir pathogènes. Ils sont à l'origine de septicémies, d'endocardites, de méningites mais aussi d'infections néonatales. Leur association à des cancers gastro-intestinaux est aujourd'hui reconnue.

Les streptocoques du groupe D sont parfois isolés de produits laitiers ou d'autres produits agroalimentaires.

Streptocoques oraux

Les streptocoques buccaux font partie de la flore commensale de la cavité buccale et du tractus respiratoire chez l'homme et l'animal. Ils représenteraient à eux seuls plus de 20 % de la flore buccale et jouent un rôle important dans la formation de la plaque dentaire. *S. mutans* et *S. sobrinus* sont impliqués dans l'étiologie de la carie dentaire.

Les streptocoques oraux sont responsables d'endocardites souvent à la suite de traitements dentaires (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. parasanguinis*), de pneumopathies, de suppurations (*S. intermedius*), d'infections génitales (*S. anginosus*) ou de septicémies. Ils sont également responsables de nombreuses infections (syndrome de détresse respiratoire, septicémies, endocardites) chez les individus immunodéprimés ou neutropéniques.

Pneumocoques

Streptococcus pneumoniae, autrefois appelé *Diplococcus pneumoniae*, est porté de façon asymptomatique par près de 60 % de la population. Mais il peut, dans certaines circonstances, être à l'origine de la pneumonie lobaire aiguë ainsi que de diverses infections (pleurésies, méningites, arthrites, otites, sinusites, péritonites, septicémies). Ces infections sont parfois graves, la gravité étant souvent liée au terrain (grand âge, tabagisme, éthylisme, sexe masculin).

Physiopathologie

Les éléments bactériens intervenant dans la pathogénicité sont soit des constituants cellulaires soit des substances excrétées par la bactérie dans le milieu extracellulaire.

Les constituants cellulaires

La capsule

Les souches présentant une capsule (et appartenant aux espèces *S. pyogenes*, *S. equi*, *S. zooepidemicus*, *S. pneumoniae* par exemple) se reconnaissent en culture sur milieu solide par l'aspect muqueux et lisse des colonies. La capsule est un élément majeur dans la pathogénicité et la virulence de la bactérie : en effet, elle s'oppose à la phagocytose. Chez les streptocoques du groupe B (*S. agalactiae*), la présence de la capsule inhibe l'activation du complément par la voie alterne en empêchant la fixation de la fraction C3 du complément sur la bactérie et en inhibant de ce fait la phagocytose. La capsule est un facteur de virulence décrit chez les streptocoques buccaux.

La paroi

Plusieurs éléments de la paroi confèrent à la bactérie son pouvoir pathogène.

Les acides lipoteichoïques jouent un rôle dans l'adhésion bactérienne aux cellules de l'hôte. Le peptidoglycane est toxique et possède des propriétés mitogènes et inflammatoires. La protéine M

intervient dans l'inhibition de la phagocytose en empêchant également la fixation du fragment C3b à la surface bactérienne. Elle permet aussi à la bactérie d'adhérer aux cellules épithéliales.

Une vingtaine de molécules protéiques tapissant la paroi bactérienne de nombreux streptocoques, seraient également impliquées dans le pouvoir pathogène de la bactérie bien que leur rôle exact ne soit pas encore connu avec certitude. Ces récepteurs sont capables de se lier spécifiquement à de nombreuses protéines plasmatiques et tissulaires, et seraient impliqués dans l'adhésion bactérienne aux muqueuses, ainsi que dans l'interférence avec les fonctions effectrices des immunoglobulines.

La C5a peptidase, enzyme présent au sein de la paroi des streptocoques des groupes A, B et G, inhibe la phagocytose en neutralisant l'activité chimiotactique du facteur C5a du complément.

La membrane cytoplasmique

Certaines protéines de la membrane cytoplasmique ont des réactivités croisées avec des antigènes des tissus cardiaque, nerveux et musculaire de l'homme et seraient ainsi à l'origine des complications post-streptococciques.

Les constituants diffusibles extracellulaires

Les polysides extracellulaires

Les streptocoques buccaux, et plus particulièrement *S. mutans* et *S. sobrinus*, sont capables de synthétiser des polysaccharides extracellulaires (polymères de glucose ou de fructose) grâce à des enzymes appelés glycosyltransférases et fructosyltransférases. Ces polymères vont leur permettre de se fixer à l'émail dentaire *via* la pellicule acquise exogène (PAE). C'est également la production de ces polymères extracellulaires qui expliquent la pathogénie des endocardites bactériennes : les streptocoques oraux se fixent sur les lésions valvulaires et provoquent des végétations endocarditiques.

Les protéines extracellulaires

Ces protéines sont des toxines ou des enzymes. Parmi les toxines, on distingue les hémolysines (ou toxines cytolitiques) et les toxines immunocytotropes mitogènes (ou superantigènes).

Les hémolysines (streptolysines O et S, pneumolysine, facteur CAMP ou protéine B) sont responsables de l'hémolyse observée sur gélose au sang. Elles détruisent également les leucocytes et de nombreuses cellules eucaryotes entraînant ainsi la libération de nombreuses molécules cytoplasmiques ou d'organites intracellulaires pharmacologiquement actifs. Aux doses sublytiques, de nombreux effecteurs de la réaction inflammatoire sont générés entraînant ainsi son exacerbation et une désactivation des fonctions phagocytaires des granulocytes.

Les toxines immunocytotropes mitogènes, produites par *S. pyogenes*, comprennent les toxines érythrogènes A, B et C ainsi que des facteurs mitogènes vis-à-vis des lymphocytes T encore mal définis. Les toxines érythrogènes ne sont sécrétées que par certaines souches et sont responsables de l'érythème observé lors de la scarlatine. Les toxines érythrogènes A (Spe A) et C (Spe C) stimulent les lymphocytes polyclonaux qui libèrent ainsi des cytokines ou d'autres médiateurs de l'inflammation provoquant ainsi le syndrome de choc toxique.

Des enzymes synthétisés par les streptocoques, en particulier oraux, interviennent également dans la pathogénicité de la bactérie. La streptokinase ou fibrinolysine favorise la dissémination des streptocoques en empêchant la fibrine de limiter la lésion tissulaire. La streptodornase (Dnase, nucléase) est responsable de la dépolymérisation des acides nucléiques. La hyaluronidase permet également la dissémination des streptocoques dans les tissus en détruisant la substance de base du tissu conjonctif.

La synthèse de protéines immunosuppressives a également été décrite pour les streptocoques buccaux.

Marqueurs épidémiologiques

Sérotypes et biotypes sont des marqueurs épidémiologiques.

L'étude antigénique de la protéine de surface M au sein des streptocoques du groupe A permet de différencier plus de 80 sérotypes. Le nombre important de sérotypes différents explique le caractère récidivant de certaines complications post-streptococciques. La caractérisation d'autres protéines de la surface bactérienne (protéines T et R) permet d'affiner le typage sérologique des souches. Les souches non identifiées par typage sérologique peuvent l'être par biotypage (basé sur une association de caractères métaboliques). Dix biotypes ont été récemment définis et, certaines corrélations entre biotypes et pouvoir pathogène ont été définies.

Chez *S. pneumoniae*, c'est le polyside capsulaire, extrêmement polymorphe, qui sert de marqueur antigénique et épidémiologique. Quatre-vingt-trois sérotypes différents ont été identifiés selon l'enchaînement des différents éléments glucidiques composant la chaîne et selon la présence ou non de ramifications dans la chaîne.

Chez les streptocoques du groupe B (*S. agalactiae*), c'est le polyside de la capsule ainsi que certaines protéines de surface (c, r et X) qui ont permis de différencier sept sérotypes différents. Les souches de sérotypes I et III sont les plus virulentes : c'est ainsi que deux tiers des souches isolées lors d'infections sévères néonatales possèdent le polyside III au sein de leur capsule.

Sensibilité aux antibiotiques

Depuis quelques années, de plus en plus d'exemples de résistance aux antibiotiques apparaissent chez les streptocoques, ce qui complique la prise en charge des infections dues à ces bactéries. La résistance semble liée à la consommation importante, et parfois sans raison, d'antibiotiques. Des cas de résistance ont été décrits chez toutes les espèces de streptocoques et aucune famille d'antibiotiques n'est indemne de résistance.

Les antibiotiques suivants ont généralement une action bactéricide vis-à-vis des streptocoques :

- β -lactamines : pénicillines (G, V), aminopénicillines, céphalosporines de 1^{re} génération. Ce sont les antibiotiques de référence pour traiter les infections streptococciques.
- Macrolides (érythromycine, spiramycine), lincosamides (clindamycine) et streptogramines sont une alternative aux β -lactamines en particulier chez les patients allergiques à la pénicilline.
- Glycopeptides (teicoplanine, vancomycine) : ils sont peu utilisés lors d'infections à streptocoques β -hémolytiques puisque ces derniers présentent peu de résistance aux β -lactamines. Par contre, ils offrent un intérêt majeur dans le traitement des infections sévères à streptocoques α -hémolytiques.
- Tétracyclines : elles sont peu employées en raison de leurs nombreuses contre-indications et de leur action seulement bactériostatique.

Cependant, des souches de streptocoques des groupes B, C et G et quelques souches de streptocoques buccaux seraient résistantes à ce jour aux β -lactamines. La résistance aux macrolides toucherait près de la moitié des souches de *Streptococcus pyogenes*, des streptocoques du groupe B et des streptocoques buccaux responsables d'infections sévères. Cette augmentation des résistances aux antibiotiques est donc préoccupante, particulièrement chez les streptocoques buccaux qui représentent un réservoir potentiel de gènes de résistance vers *S. pneumoniae*.

Tous les streptocoques sont résistants aux aminosides ce qui en fait d'ailleurs un critère d'identification.

Certaines nouvelles familles d'antibiotiques (kétolides, oxazolidinones) semblent efficaces dans le traitement des infections streptococciques.

Lactobacillus (C. Badet, B. Richard, N. Thébaud)

Considérations taxonomiques

Les lactobacilles font partie de la famille des bactéries lactiques qui comprend plusieurs genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium* et *Bifidobacterium*.

Les bactéries du genre *Lactobacillus* sont classées en trois groupes en fonction de leurs propriétés fermentaires (Tableau 1.3) :

– Groupe I : lactobacilles homofermentaires stricts, produisant du lactate par la voie d'Emden-Meyerhof, ne fermentant ni les pentoses ni le gluconate.

C'est dans ce groupe que l'on retrouve les espèces les plus acidifiantes et les plus thermophiles.

– Groupe II : hétérofermentaires facultatifs fermentant les hexoses par la voie d'Emden-Meyerhof et capables de fermenter les pentoses en lactate et acétate par une phosphokétolase inductible.

– Groupe III : hétérofermentaires stricts, fermentant les hexoses en lactate, acétate (ou éthanol) et CO₂; fermentant également les pentoses en lactate et acétate.

Tableau 1.3 : principales espèces de lactobacilles retrouvées dans la cavité buccale.

Groupe I	Groupe II	Groupe III
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>
<i>L. salivarius</i>	<i>L. rhamnosus</i>	
	<i>L. sake</i>	

Écologie-Habitat

Ces bactéries ubiquitaires colonisent tous les habitats présentant une basse tension en oxygène et contenant des glucides fermentescibles, des produits d'hydrolyse de protéines, des vitamines, et des facteurs de croissance.

L'homme est quotidiennement en rapport avec les lactobacilles à la fois parce qu'il est leur hôte naturel, et parce qu'il consomme des produits fermentés par ces bactéries. En effet, elles sont utilisées en alimentation humaine pour conserver à moindre coût et transformer des matières premières végétales et animales (céréales, légumes, lait et produits laitiers, viande et poisson).

Les lactobacilles du groupe I sont retrouvés dans le lait et ses dérivés et, dans le tractus digestif et les organes génitaux de l'homme et de l'animal où leur présence contribue au maintien d'un équilibre avec le reste de la flore.

Les lactobacilles du groupe II sont principalement rencontrés dans les végétaux et les viandes fermentées. Quelques espèces sont des hôtes normaux des voies digestives et urogénitales de l'homme. Les espèces du groupe III se développent avec d'autres bactéries lactiques dans les produits alimentaires fermentés ou dans le tube digestif de l'homme. Dans le tractus digestif, elles contribuent à maintenir un bon équilibre en produisant de l'H₂O₂, des bactériocines et des substances antibiotiques.

Lactobacilles et cavité buccale

Les bactéries du genre *Lactobacillus* appartiennent à la flore normale de la cavité buccale. Elles apparaissent au cours de la première année de la vie de l'enfant avec les premières dents et sont alors

retrouvées au niveau de la salive, de la surface de la langue, de la plaque dentaire et des dents. Dans la salive, leur présence est d'autant plus fréquente que l'âge des sujets examinés augmente.

Au niveau de la plaque dentaire, les auteurs s'accordent à constater une augmentation de leur taux préalablement à l'établissement d'une lésion carieuse; ce taux passe de 1 % à 4 à 5 %.

Ces bactéries ont une faible capacité d'adhérence aux surfaces lisses et donc une affinité relativement faible pour les tissus dentaires. Ainsi, elles colonisent essentiellement les sites de la cavité buccale qui permettent une rétention mécanique, comme les anfractuosités naturelles de la dent, les restaurations débordantes ou non-étanches et les dispositifs orthodontiques.

Le nombre de lactobacilles salivaires est également corrélé à la consommation en glucides fermentescibles : il s'élève lors d'un régime sucré, diminue lors de la suppression des sucres.

D'autre part, les lactobacilles sont dénombrés en plus grande quantité pour des pH salivaires bas (inférieurs à 6,9).

Le débit salivaire semble également influencer la présence de lactobacilles. En effet, la xérostomie et l'hyposalie provoquent une augmentation du taux de lactobacilles.

Enfin, certaines pathologies, comme le diabète, influencent également le taux de lactobacilles.

Isolement

Les lactobacilles ont besoin de très nombreux facteurs de croissance et ne sont pas capables de se développer en présence de peptones seules.

Leur isolement nécessite l'utilisation d'un milieu adapté (MRS, Rogosa).

Caractères bactériologiques

Le genre *Lactobacillus* regroupe un très grand nombre d'espèces à Gram positif, en forme de bâtonnets ou de coccobacilles isolés ou en chaînettes. Les lactobacilles sont asporogènes, anaérobies facultatifs. Ils ont des exigences nutritionnelles complexes et un large spectre de température de croissance (2 à 53 °C). Ils sont acidophiles avec un pH optimum de croissance de 5,5 à 6,2.

En culture sur gélose, les colonies ont en moyenne un diamètre de 2 à 5 mm. Elles apparaissent convexes avec des bords réguliers, lisses ou rugueuses, brillantes, opaques et généralement non pigmentées. En milieu liquide, la croissance a lieu dans la totalité du tube, mais les cellules sédimentent rapidement après la fin de la croissance.

La plupart des souches montrent une légère activité protéolytique et une faible activité lipolytique.

Caractères biochimiques

Les bactéries du genre *Lactobacillus* sont anaérobies mais aérotolérantes, et ne possèdent ni catalase, ni réductase, ni cytochrome oxydase.

L'identification des groupes est basée sur trois caractères : présence d'une arginine déshydrogénase, fermentation du ribose et production de CO₂ à partir du glucose.

La détermination de l'aptitude à métaboliser les glucides a permis de distinguer des profils fermentaires et de préciser la classification en espèces (Tableau 1.4). Cette méthode reste la plus utilisée pour l'identification de ces bactéries. Chaque espèce possède un profil type référencé dans le *Bergey's Manual*. Cette investigation est simplifiée grâce à l'utilisation de galeries miniaturisées, les galeries API 50 CHL.

Tableau 1.4 : caractères biochimiques des principales espèces de lactobacilles retrouvées dans la cavité buccale.

	ADH	CO ₂ (1)	amygdaline	arabinose	cellobiose	esculine	fructose	galactose	glucose	lactose	maltose	mannitol	mannose	mélézitose	melibiose	raffinose	rhamnose	ribose	saccharose	salicine	sorbitol	tréhalose	D-xylose
Groupe I																							
<i>L. acidophilus</i>	-	-	+	-	+	+	v	+	+	+	+	-	+	-	v	v	-	-	+	+	-	v	-
<i>L. delbrueckii</i>	-	-	-	-	v	-	+	-	+	-	v	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	v	-
<i>L. helveticus</i>	-	-	-	-	-	-	v	+	+	+	v	-	v	-	-	-	-	-	-	-	-	v	-
<i>L. salivarius</i>	-	-	-	-	-	v	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	v	-	+	v	v	+	-
Groupe II																							
<i>L. casei</i>	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	v	+		+			-	-	-	+	-	+	
<i>L. paracasei</i>	-	-	+	-	+	+	+	+	+	v	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	v	+	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	v	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v	-	+	+	+	+	+	-
<i>L. rhamnosus</i>	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>L. sake</i>	-	-	v	v	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+		-	+	-
Groupe III																							
<i>L. brevis</i>	+	+	-	+	-	v	+	v	+	v	+	-	-	-	v	v	-	+	v	-	-	-	v
<i>L. buchneri</i>	+	+	-	v	-	v	+	v	+	v	+	-	-	+	+	v	-	+	v	-	-	-	v
<i>L. fermentum</i>	+	+	-	v	v	-	+	+	+	+	+	-	v	-	+	+	-	+	+	-	-	v	-

(1) production de CO₂ à partir du glucose

Pouvoir pathogène

Les lactobacilles sont classés GRAS (*Generally Recognized As Safe*) dans la nomenclature internationale et, de plus, certaines souches appelées probiotiques sont reconnues bénéfiques à la santé humaine. Cependant, ces bactéries sont impliquées dans le processus carieux, et plus particulièrement dans la progression de la lésion au sein de la dentine. En effet, il existe une corrélation entre la profondeur de la lésion et le pourcentage de lactobacilles.

Enfin, certaines espèces de lactobacilles appartenant aux groupes I et II, et plus particulièrement *L. rhamnosus*, ont été impliquées dans des pathologies générales : infections pleurales et urinaires, endocardites, méningites, septicémies, principalement chez des sujets immunodéprimés. Une des portes d'entrée décrites est l'oropharynx.

Physiopathologie

Les lactobacilles sont acidogènes et acidophiles.

Au cours du déroulement de la maladie carieuse intervient une modification de la communauté bactérienne associée au métabolisme du glucose et à la baisse de pH selon deux étapes. Une première chute de pH entre 5,5 et 4,5 permet un enrichissement du milieu en espèces potentiellement cariogènes, tandis que les espèces associées à l'état de santé sont relativement peu affectées. Puis, une diminution supplémentaire de pH augmente la compétitivité des odontopathogènes, et inhibe alors la croissance et le métabolisme des espèces qui ne sont pas associées au processus carieux.

Il semble que l'adhérence des lactobacilles à la dentine soit favorisée par leur affinité pour la matrice collagénique rendue accessible par la déminéralisation.

Sensibilité aux antibiotiques

Le traitement recommandé pour les infections générales est une association de pénicilline et d'amnoglycoside. L'érythromycine ou la clindamycine peuvent également être prescrites en cas d'allergie aux pénicillines.

Les lactobacilles présentent le plus souvent une résistance à la vancomycine ainsi qu'une résistance variable aux céphalosporines et aux quinolones.

Actinomyces (P. Michaillesco)

Considérations taxonomiques

Le genre *Actinomyces* est un groupe hétérogène de bactéries anaérobies strictes ou facultatives, dont le G + C est compris entre 55 % et 71 %. Ce sont des bacilles polymorphes, Gram positif, non mobiles, non sporulés, non alcool-acido-résistants. Les produits du métabolisme glucidique sont les acides succinique, acétique, et lactique. En août 2005, le genre comprend 37 espèces reconnues (IJSB, IJSEM). Il fait partie de la famille *Actinomycetaceae*, ordre *Actinomycetales*, classe *Actinobacteria*. La taxonomie du genre *Actinomyces* n'est pas actuellement stabilisée comme en témoignent les treize nouvelles espèces reconnues depuis 2000. Le genre *Actinomyces* dérive du grec *actino* et *myces* qui signifie « rayon de champignon » bien que les espèces soient réellement des bactéries. Cette confusion provient des morphologies cellulaires (bouts renflés type conidies ou branchement type mycelium). Les espèces ont pu entrer dans des genres proches *Actinobaculum*, *Arcanobacterium*, *Mobiluncus*, *Varibaculum* voire *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Nocardia* ou *Streptomyces*.

L'espèce type du genre est *Actinomyces bovis* Harz 1877 ATCC 13683, CCUG 31996, CIP 103258, DSM 43014, NCTC 11535.

Écologie et habitat

Chez l'homme, les espèces du genre *Actinomyces* font partie de la flore endogène commensale des muqueuses des voies aériennes supérieures, de la cavité buccale, du tractus intestinal et vaginal. Ces espèces sont également retrouvées chez de nombreux animaux. Dans la cavité buccale, elles sont retrouvées dans les biofilms dentaires, en particulier dans la flore sous-gingivale mais également sur les muqueuses.

Il existe une vingtaine d'espèces d'*Actinomyces* présentes chez l'homme dont une dizaine est retrouvée dans la cavité buccale. *Actinomyces israelii* est le principal responsable de l'actinomycose. *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus* sont les premières bactéries du genre qui colonisent la cavité du nourrisson et de la plaque dentaire en phase précoce. *A. georgiae*, *A. gerencseriae*, *A. meyeri* sont présents dans le sillon gingivo-dentaire sain. *A. radidentis* a été isolé d'une pulpe dentaire infectée. *A. graevenitzi*, isolé d'une infection respiratoire, est aussi retrouvé dans la salive du nouveau-né. *A. dentalis* et *A. oricola* ont été isolés d'un abcès dentaire.

Isolement

Le prélèvement se fait à l'aide d'une curette ou d'une seringue, après nettoyage préalable du site. La mise en culture doit être rapide et il faut privilégier un milieu de transport pour anaérobies.

L'isolement des micro-organismes est difficile car les lésions sont rarement monomicrobiennes sauf en cas d'actinomycose franche. De plus, le nombre de bactéries présentes dans les tissus infectés est

faible; les bactéries sont concentrées dans des grains de pus (jaunes) appelés «grains actinomycosiques». Enfin, la croissance en primoculture est fastidieuse et longue.

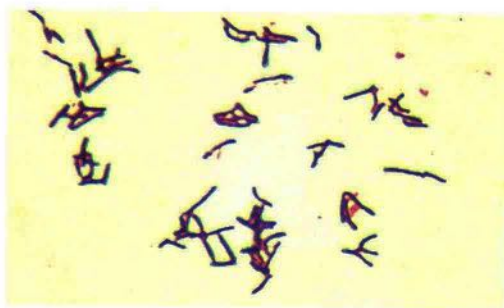
La culture est réalisée sur une gélose Columbia ANC additionnée de 5 % de sang de mouton ou une gélose trypticase soja additionnée de bacitracine (7,5 mg/L) et vancomycine (5 mg/L). Le milieu d'enrichissement peut être le bouillon thioglycollate. La croissance bactérienne se fait à 35°C en anaérobiose ou sous CO₂ (7-8 %).

Caractéristiques bactériologiques (morphologie, caractères cultureux)

La coloration de Gram sur prélèvement de pus peut révéler des microcolonies de filaments à Gram positif droits ou légèrement incurvés, parfois ramifiés pouvant présenter des extrémités renflées. Ce sont des bacilles polymorphes de 0,2 à 1 µm de diamètre et de longueur variable, parfois coccobacillaires pour *A. odontolyticus* et *A. meyeri*, parfois sous forme de filaments (10 à 50 µm) seuls, en paire ou sous forme d'arrangement en V, Y, L, en palissade ou en groupe (Figure 1.5). La croissance est longue, 5 jours minimum voire 15 à 20 jours.

La taille des colonies sur gélose varie de 1 mm de diamètre (*A. meyeri*) à 4 à 5 mm pour *A. viscosus*.

Figure 1.5 : Actinomyces après coloration de Gram.



Caractères biochimiques (identification du genre, identification de l'espèce)

L'identification présomptive du genre *Actinomyces* repose sur la coloration de Gram (bacilles à Gram positif), l'absence de catalase (excepté pour *A. naeslundii* genospecies 2, *A. radidentis* et *A. viscosus*), l'absence de lipase et de Dnase; bacilles anaérobies facultatifs, les colonies sur milieux gélosés sont irrégulières type «molaire dentaire» et de couleur blanche.

L'identification des espèces repose sur les caractères cultureux, les tests biochimiques (catalase, réduction des nitrates, hydrolyse de l'esculine, et tests enzymatiques type API ZYM) et l'analyse des produits terminaux du métabolisme (acide succinique, acétique et lactique mais pas propionique).

L'identification des espèces buccales du genre *Actinomyces* est basée sur les critères suivants :

- Morphologie de la colonie : rugueuse, lisse, adhérence à la gélose, présence d'un pigment coloré sur gélose brucella et gélose au sang laqué de lapin.
- Coloration de Gram.
- Type respiratoire (après 5 à 10 jours).
- Catalase avec H₂O₂ à 15 %.

- Hémolyse (CAMP factor).
- Tests enzymatiques (API ZYM) en particulier l'hydrolyse de l'urée, de l'esculine, production d' α -fucosidase, α -galactosidase, O-nitrophenyl β -D-galactopyranoside (ONPG), β -D-acétylglucosaminidase (β – NAG), α -mannosidase, fermentation du 1-arabinose.

Les travaux de Santala et *al.* (2004) ont montré que les tests phénotypiques basés sur 4 kits commerciaux détectent seulement 26 à 65 % des espèces classiques d'*Actinomyces* : le kit RAPID ID 32 A de bioMérieux semble le plus discriminant. Actuellement, l'analyse des séquences ARN 16S révèle une plus grande hétérogénéité des souches que celle obtenue avec les tests biochimiques classiques. Cette nouvelle approche semble donc plus discriminante.

L'identification de l'espèce est actuellement encore problématique.

Pouvoir pathogène

Les pathologies sont classiquement l'actinomycose, éventuellement des abcès dentaires, des abcès du cerveau, des infections cutanées ou une septicémie, mais également des caries dentaires radiculaires et des parodontopathies. Les espèces pathogènes sont *Actinomyces turicensis* (infections génito-urinaires et abdominales), *Actinomyces radingae* (infections cutanées), *Actinomyces europaeus* (cystites et infections urinaires), *Actinomyces israelii* (actinomycose cervico-faciale).

Actinomycose

Les actinomyces sont des bactéries pathogènes opportunistes qui font partie de la flore endogène normale de l'homme. Leur pouvoir pathogène s'exprime lors de la rupture des barrières muqueuses. D'autres espèces bactériennes interviennent comme co-pathogènes en diminuant les défenses de l'organisme et en réduisant la pression partielle locale en oxygène. Les lésions d'actinomycose sont multibactériennes au départ (*Fusobacterium*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Actinobacillus* et *Actinomyces*) mais, à terme, elles peuvent devenir monobactériennes. Il existe cinq formes cliniques d'actinomycose selon le lieu de l'infection : cervico-faciale, thoracique, abdominale, pelvienne et cervicale.

Les espèces responsables de l'actinomycose cervico-faciale sont essentiellement *A. israelii* et *A. meyeri*.

Marqueurs épidémiologiques

Il existe une corrélation entre les souches cliniques isolées et les sites infectieux. *Actinomyces turicensis* est le germe le plus fréquemment isolé dans les infections génito-urinaires, *Actinomyces radingae* dans les abcès chroniques de la poitrine et du dos, *A. europaeus* est associé aux abcès cutanés du cou et des voies génitales, *Actinomyces lingnae*, *A. gravenitzii*, *A. odontolyticus* et *A. meyeri* sont associés aux infections du tractus respiratoire.

Sensibilité aux antibiotiques

Les espèces bactériennes du genre *Actinomyces*, impliquées dans les pathologies humaines, sont sensibles aux pénicillines : c'est le traitement de choix. En cas d'allergie aux bêtalactamines on peut utiliser les antibiotiques suivants : érythromycine, clindamycine, tétracycline, chloramphénicol, rifampicine, vancomycine.

***Porphyromonas* (M.-H. Cottet)**

Considérations taxonomiques

En 1988, Shah et Collins ont créé un nouveau genre, *Porphyromonas* (du gr. *porphureos* « de couleur pourpre » et du gr. *monas* « unité »), pour reclasser les *Bacteroides* asaccharolytiques pigmentés de source humaine. Ainsi, *B. asaccharolyticus*, *B. gingivalis*, et *B. endodontalis* ont été respectivement renommés *P. asaccharolytica*, *P. gingivalis* et *P. endodontalis*. La plupart des isolats cliniques de *Porphyromonas* d'origine buccale appartiennent probablement à l'espèce *P. gingivalis*; les isolats issus de canaux radiculaires infectés appartiennent probablement à l'espèce *P. endodontalis* alors que ceux d'origine extra-buccale appartiennent probablement à l'espèce *P. asaccharolytica*.

En 1995, Willems et Collins ont amendé le genre *Porphyromonas* pour y reclasser l'espèce *Oribicularum catoniae* en tant que *P. catoniae*. Cette espèce, de source humaine et d'origine buccale, est saccharolytique et non-pigmentée. Le genre *Porphyromonas* comprend donc maintenant une espèce saccharolytique, *P. catoniae*, ainsi que deux espèces faiblement saccharolytiques, *P. levii* et *P. macacae*. D'après la classification proposée en 2001 dans le *Bergey's manual of systematic bacteriology*, le genre *Porphyromonas* (Genre I) appartient à la famille *Porphyromonadaceae* (Famille III) de l'ordre *Bacteroidales* (Ordre I) qui fait partie de la classe *Bacteroidetes* (Classe I) du phylum *Bacteroidetes* (Phylum XX) du domaine *Bacteria*.

Actuellement, le genre *Porphyromonas* comprend douze espèces pigmentées et une espèce non pigmentée. Parmi ces espèces, seules quatre sont de source humaine : *P. asaccharolytica*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* et *P. catoniae*. Les autres espèces ont été isolées de la cavité buccale d'animaux : *P. canoris*, *P. cangingivalis*, *P. cansulci*, *P. gingivicanis* et *P. crevioricanis* chez le chien ; *P. circumdentaria* chez le chat ; *P. gulae*, le biovar animal catalase positif de *P. gingivalis*, chez le chien et le chat ; *P. macacae* chez le singe et le chat et *P. levii* est de source bovine. Bien que leur importance en clinique humaine soit encore inconnue, les espèces provenant de la cavité buccale du chien, du chat et du singe pourraient être observées lors d'infections dues à des morsures.

Écologie et habitat

L'habitat naturel de *P. gingivalis* est la cavité buccale de l'homme. Dans cet habitat, son principal biotope est représenté par les sites sous-gingivaux, mais il peut également être isolé, en faible proportion, ou en faible nombre, dans la salive et sur les différentes muqueuses buccales. Avant la puberté, ou en absence d'inflammation gingivale, la langue et les amygdales pourraient servir de réservoirs. Dans ces environnements, la température, le pH et l'apport en nutriments essentiels ne sont pas favorables à l'expression du potentiel pathogénique de *P. gingivalis*. Avec la puberté, des modifications hormonales apparaissent qui augmentent la réactivité des tissus parodontaux aux agressions bactériennes et amplifient la réaction inflammatoire. Ainsi, lorsque la plaque supra-gingivale s'accumule, l'environnement sous-gingival devient sans doute plus favorable à l'établissement durable de *P. gingivalis*.

Isolément

Atmosphère

P. gingivalis est un anaérobie strict aérotolérant, son isolement s'effectue en anaérobiose sur des milieux sélectifs ou non. L'atmosphère généralement utilisée se compose d'azote (80-90 %), d'hydrogène (10-5 %) et de dioxyde de carbone (10-5 %). Comme pour de nombreux anaérobies, sa croissance est lente et les cultures doivent être incubées pendant 24 à 48 heures avant de pouvoir bien visualiser

les colonies formées. Ceci nécessite, la plupart du temps, une culture en duplicata : une boîte est examinée au bout de 24 heures, l'autre boîte n'étant examinée qu'après 48, 72 ou 96 heures.

Milieux de culture

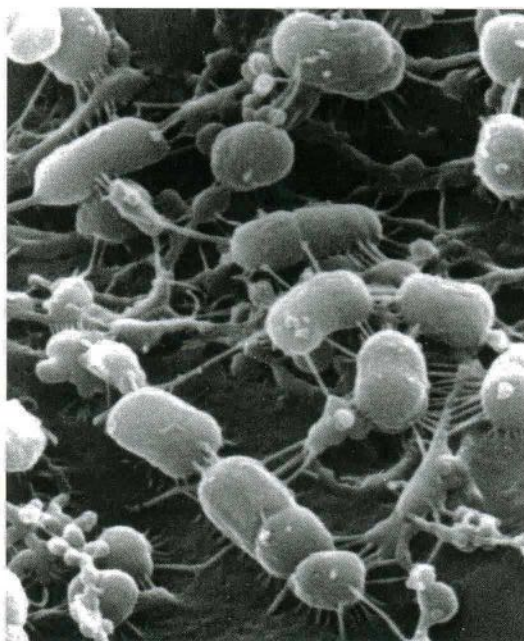
P. gingivalis est exigeant sur le plan nutritionnel, on utilise donc une base gélosée qui est enrichie en nutriments par l'addition de peptone/protéose-peptone, extrait tryptique de soja ou extrait de levure. La présence de colistine, bacitracine et acide nalidixique permet de sélectionner *P. gingivalis* dans un prélèvement de bactéries provenant d'un foyer d'infection mixte.

Comme les autres *Bacteroides* à pigmentation noire, *P. gingivalis* a besoin d'hème. Sur gélose au sang, l'hème est fourni par les érythrocytes ou directement par l'hémoglobine si le sang est lysé. Sur gélose normale et en bouillon de culture, il faut ajouter de l'hémine (chlorure de protoporphyrine IX-Fe (III)). *P. gingivalis* a également besoin de vitamine K qui est généralement apportée sous forme de ménadione (vit K3). Ce besoin dépend des souches et de la composition du milieu.

Morphologie et caractères cultureux

P. gingivalis est un bacille, ou coccobacille, à Gram négatif, immobile, encapsulé, non sporulé, anaérobie strict. Les cellules sont de petite taille (0,5 à 1 µm de diamètre pour une longueur de 2 µm) (Figure 1.6). Sur gélose au sang, les colonies, d'un diamètre variant de 1 à 2 mm, sont lisses (rarement rugueuses), brillantes et convexes. Entre 4 et 8 jours, elles se pigmentent progressivement, de la périphérie vers le centre, en brun foncé ou noir. Il apparaît rarement des colonies non-pigmentées. La croissance est optimale à la température de 37°C, elle est inhibée par la pénicilline, la rifampicine, la vancomycine et les sels biliaires.

Figure 1.6 : *Porphyromonas gingivalis*, microscopie électronique à balayage (Microbiologie-Université Rennes 1).



Caractères biochimiques

Le pigment, situé en surface des cellules, est principalement constitué d'hème dimérique, mais on observe également des traces de protoporphyrine IX.

P. gingivalis qui est asaccharolytique utilise comme source d'énergie des peptides, ou des acides aminés lorsque les peptides font défaut. La plupart des souches présentent une forte odeur putride.

Habituellement, en bouillon de culture, les principaux produits terminaux du métabolisme sont les acides butyrique, acétique, isovalérique, isobutyrique, propionique et phénylacétique ainsi que l'ammoniac. *P. gingivalis* synthétise des protéases à cystéine. Il est indologène, nitrate réductase négatif et n'hydrolyse ni l'amidon ni l'esculine. Il agglutine les érythrocytes de mouton. Malate déshydrogénase et glutamate déshydrogénase sont présentes alors que glucose-6-phosphate déshydrogénase et 6-phosphogluconate déshydrogénase sont absentes.

L'acide diaminé du peptidoglycane est la lysine. Comme transporteurs d'électrons, *P. gingivalis* utilise un cytochrome de type *bd* et une ménaquinone avec neuf unités isoprènes (MK-9; vitamine K2). On note la présence d'acides gras cellulaires hydroxylés en position 3 qui sont généralement des acides gras saturés linéaires. Il existe également des acides gras non hydroxylés majoritairement branchés avec prédominance de l'iso-C15 : 0.

Le pourcentage de G + C de l'ADN varie de 46 à 48 %.

La souche type est ATCC 33277.

Même si la classification définitive au rang d'espèce est difficile au sein du genre *Porphyromonas*, des critères taxonomiques permettent de distinguer *P. gingivalis* des trois autres espèces de source humaine (Tableau 1.5).

Tableau 1.5 : caractéristiques distinctives des *Porphyromonas* de source humaine.

Caractère phénotypique	<i>P. asaccharolytica</i> ^T	<i>P. endodontalis</i> ^T	<i>P. gingivalis</i> ^T	<i>P. cationae</i> ^T
Pigmentation	+	+	+	-
Fluorescence UV ($\lambda = 366$ nm)	+	+	-	-
Vancomycine	S	S	S	R
Bile	S	S	S	R
Protéases à cystéine	-	-	+	-
Hémagglutination	-	-	+	-
Fermentation des sucres	-	-	-	+
β -galactosidase	-	-	-	+
N-acétyl- β -glucosaminidase	-	-	+	+
α -Fucosidase	+	-	-	+
Acide phénylacétique	-	-	+	-

^T, souche type. *P. asaccharolytica* ATCC 25260 ; *P. endodontalis* ATCC 35406 ; *P. gingivalis* ATCC 33277 ; *P. cationae* ATCC 51270. -, réaction négative ; +, réaction positive ; S, sensible ; R, résistant.

Facteurs de virulence

Structures cellulaires

L'acide désoxyribonucléique (ADN)

L'ADN de *P. gingivalis* est un motif moléculaire associé aux pathogènes (PAMP, *Pathogen Associated Molecular Pattern*). Il interagit avec un récepteur de reconnaissance de pathogène (PRR, *Pattern-*

Recognition Receptor), TLR9 (*Toll-Like Receptor 9*), stimulant ainsi la libération de cytokines inflammatoires. Cette immunomodulation est cependant plus faible que dans le cas d'*Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Les *fimbriae*

P. gingivalis possède des *fimbriae* réparties de façon péritriche, les unes sont longues et filamenteuses (*fimbriae* majeures), les autres sont courtes et fines (*fimbriae* mineures). L'étude de la séquence du gène *fimA*, ou de la fimbrioline (FimA, sous-unité des *fimbriae* majeures) qu'il encode, a permis de distinguer six types de *fimbriae* (I à V et Ib). La virulence de *P. gingivalis* semble influencée par le type de *fimbriae* exprimé, les souches porteuses de *fimbriae* de type II semblant les plus virulentes.

En tant qu'adhésines, les *fimbriae* participent à la formation des biofilms dentaires en permettant à la fois l'adhésion à des composants salivaires présents dans le film de conditionnement et la coaggrégation avec différents genres bactériens présents dans la cavité buccale (*Actinomyces*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, et *Treponema*). Elles adhèrent également aux cellules procaryotes, à diverses molécules de la matrice extracellulaire ainsi qu'à des molécules telles que les cytokératines et le fibrinogène. Les *fimbriae* sont également des PAMP qui interagissent avec divers PRR. Elles semblent notamment interagir avec des récepteurs membranaires (CD14 et $\beta 2$ -intégrines). En ce qui concerne l'interaction avec les TLR, les avis semblent plus partagés, elles pourraient interagir avec TLR2 et TLR4. L'ensemble de ces interactions déclenche la synthèse de cytokines pro-inflammatoires (*Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), interleukine-1 β (IL-1 β), IL-6 et IL-8. On observe également l'induction de l'expression de molécules d'adhésion (*Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), P- et E-sélectines) et de molécules de co-stimulation (CD40, CD80, CD86).

Les *fimbriae* sont immunogéniques.

Les hémagglutinines

Cinq hémagglutinines (Hag A à Hag E) ont été identifiées. L'hémagglutinine A comporte trois ou quatre domaines (HA1 à HA4). Le deuxième domaine, HA2, paraît plus particulièrement impliqué dans la fixation du noyau porphyrinique de l'hème. L'hémagglutinine Hag A subit une maturation post-traductionnelle qui permet d'individualiser les quatre domaines par clivage enzymatique. En surface, Hag A se présenterait donc comme un complexe formé de quatre polypeptides associés de façon non covalente.

Les hémagglutinines sont immunogéniques.

Le lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS est ancré dans le feuillet externe de la membrane externe. Cette molécule se compose de deux parties qui présentent des propriétés biologiques différentes. La partie lipidique (lipide A) est à la fois une toxine et un PAMP alors que la partie polysaccharidique (polysaccharide O) est immunogénique. Le lipide A du LPS de *P. gingivalis* ne possède qu'une très faible activité endotoxinique. Dans le sérum, il se fixe mal à la LBP (*LPS-Binding Protein*), ce qui ralentit son transfert à CD14. En raison de sa structure secondaire cylindrique, il interagit avec TLR2 plutôt qu'avec TLR4. Il inhibe l'expression de la E-sélectine par les cellules endothéliales et empêche l'apoptose des polynucléaires neutrophiles. En outre, il présente également une activité agglutinante élevée.

La capsule

L'épaisseur et l'apparence de la capsule varient selon les souches. Elle confère un caractère hydrophile à la surface de la bactérie, ce qui lui permet sans doute de résister à la phagocytose. Les polysaccha-

rides de cette capsule activent faiblement le système du complément par la voie alterne. Cependant, la présence d'anticorps spécifiques de ces polysaccharides pourrait permettre une activation anticorps-dépendante du système du complément.

Les vésicules

Les vésicules se forment par bourgeonnement de la membrane externe. Elles sont de très petite taille et sont souvent émises en grand nombre. Leur membrane a les mêmes propriétés que la membrane externe et elle est également entourée d'une capsule. Le contenu de ces vésicules est le reflet du contenu périplasmique.

Substances élaborées

Les enzymes

P. gingivalis présente un très large spectre d'activités enzymatiques, qu'elles soient protéolytiques ou non. Les enzymes transitent par le périplasme avant d'être libérées dans l'environnement ou emportées par les vésicules.

– **Activités protéolytiques** (Tableau 1.6). L'ensemble des activités protéolytiques ressemblant à celles de la trypsine est imputable à une famille de protéases à cystéine, les gingipaïnes. Trois gingipaïnes ont été identifiées. Deux d'entre elles clivent leurs substrats en position C-terminale de l'arginine, ce sont les Arg-gingipaïnes A et B (RgpA et RgpB, respectivement). La troisième gingipaïne clive ses substrats en position C-terminale de la lysine, il s'agit de la Lys-gingipaïne (Kgp). Les gingipaïnes RgpA et Kgp sont synthétisées sous la forme de pré-protéines comportant un domaine N-terminal catalytique suivi de 4 domaines adhésine/hémagglutinine nommés HA1, 2, 3 et 4, en raison de leur homologie avec les domaines de Hag A. Les pré-protéines subissent une autolyse dont les domaines catalytiques seraient responsables. Quatre coupures enzymatiques permettraient ainsi d'individualiser les cinq domaines. À la surface de la cellule, les domaines adhésine/hémagglutinine resteraient associés de façon non-covalente au domaine catalytique. Le domaine HA2 de ces gingipaïnes semble lui aussi impliqué dans la fixation du noyau porphyrinique de l'hème. La troisième gingipaïne, RgpB, ne possède qu'un seul domaine, le domaine catalytique qui est analogue à celui de la RgpA. La Kgp est responsable de la protéolyse de l'hémoglobine et autres hémoprotéines. Les mutants dépourvus de Kgp ont une plus faible capacité d'hémagglutination et sont incapables d'accumuler l'hème à leur surface. Les Rgp permettent de dégager des cryptitopes qui accroissent les possibilités de fixation des *fimbriae*. Les mutants dépourvus de RgpA possèdent moins de *fimbriae* majeures, ont une plus faible capacité de coagréation avec les bactéries à Gram positif et émettent plus de vésicules.

En dehors de ces gingipaïnes, *P. gingivalis* posséderait au moins trois autres protéases à cystéine dont deux collagénases et une enzyme homologue de l'exotoxine SpeB de *S. pyogenes*. *P. gingivalis* posséderait également des protéases à sérine.

– **Activités non-protéolytiques**. *P. gingivalis* possède également des enzymes responsables de la dégradation de molécules non-protéiques telles que phospholipase A, phosphatases alcaline et acide, nucléases, hyaluronidase, chondroïtine sulfatase et héparinase.

Produits métaboliques toxiques

Le métabolisme de *P. gingivalis* est à l'origine de produits qui sont toxiques pour les cellules eucaryotes ou qui présentent des propriétés immunomodulatrices : composés volatils sulfurés, acides gras à courte chaîne (butyrate et propionate), indole et ammoniac.

Tableau 1.6 : principales activités protéolytiques de *P. gingivalis*.

Atteinte à l'intégrité tissulaire
• Dégradation de protéines de la matrice extracellulaire (fibronectine, laminine...). • Dégradation du collagène. • Activation de métalloprotéases. • Inactivation d'inhibiteurs tissulaires de protéases (α1-antitrypsine, α2-macroglobuline, TIMP-1). • Destruction des jonctions intercellulaires.
Perturbation des défenses de l'hôte
• Dégradation des immunoglobulines. • Activation ou inactivation de facteurs du système du complément (clivage de C5, dégradation de C3, inactivation de C1-Inh). • Destruction de cytokines et chimiokines (IL-1β, IL-6, TNFα, IL-8...). • Clivage de récepteurs membranaires (ICAM-1, β_2-intégrines, CD14, CD4, CD8...).
Fonctions bactériennes
• Activation du système des kinines ou génération directe de la bradykinine. • Activation des systèmes de la coagulation et de la fibrinolyse. • Dégradation du fibrinogène. • Dégradation d'hémoprotéines ou de ferriprotéines (hémoglobine, hémopexine, haptoglobine, transferrine...). • Exposition de cryptitopes permettant d'amplifier l'adhésion des <i>fimbriae</i>. • Modification post-traductionnelle de protéases et d'adhésines.

Influence des facteurs environnementaux

L'expression des facteurs de virulence est influencée par des facteurs environnementaux tels que l'oxygène, la température, le pH et la présence d'hème.

L'oxygène

P. gingivalis est un anaérobie strict qui présente une certaine aérotolérance due à la présence d'une superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Lors d'une exposition à l'air, l'expression de cette SOD augmente, ce qui protège *P. gingivalis* contre les mécanismes de bactéricidie dépendants de l'oxygène utilisés par les phagocytes.

La température

La croissance de *P. gingivalis* s'effectue sur une plage de température allant de 37°C à 39°C. Lorsque la température du milieu passe de 37°C à 39°C, l'expression des *fimbriae* et l'activité Rgp et Kgp diminuent. Ceci s'accompagne d'une baisse de la capacité d'hémagglutination et de dégradation de l'hémoglobine. Par contre, l'expression de la SOD augmente.

Le pH

P. gingivalis peut se développer sur un intervalle de pH allant de pH 6,5 à pH 8,3 avec une croissance maximale à pH 7,0-7,5. Le pH du sillon gingivo-dentaire est normalement voisin de la neutralité, mais il augmente en cas d'inflammation pour atteindre des valeurs voisines de pH 8,5-9,0. Ces valeurs alcalines favorisent l'expression de la SOD et l'activité des gingipainés.

La présence d'hème

L'hème et son atome de fer peuvent être utilisés de façon indépendante. *P. gingivalis* se sert de l'hème pour la formation du pigment (hème dimérique) qui le protège contre le peroxyde

d'hydrogène. Les enzymes RgpA et/ou RgpB ainsi que la Kgp sont nécessaires à la formation de ce pigment. L'hème sert également à la synthèse du cytochrome *bd* qui participe à l'équilibre redox de la cellule, permet la croissance à température élevée et assure une protection contre le stress oxydatif. Quant à l'atome de fer, il est utilisé, d'une part pour constituer, avec l'aide de la ferritine, une réserve martiale intracellulaire biodisponible et, d'autre part, comme cofacteur de la SOD. Il semble, en outre, participer à la régulation de l'expression de la virulence. Ainsi, en présence d'hème, les *fimbriae* sont plus nombreux, l'émission de vésicules est moins importante et la pathogénicité est accrue chez l'animal.

Pouvoir pathogène naturel

P. gingivalis est plus particulièrement associé aux parodontites agressives généralisées ou chroniques sévères. Toutefois, on peut l'observer dans d'autres affections buccales telles que les gingivites et parodontites nécrotiques, les péri coronarites, les infections endocanalaire et les abcès périapicaux.

On peut également retrouver *P. gingivalis* dans des pathologies extra-buccales : antrites suppurées, abcès pulmonaires, abcès intra-abdominaux, vaginites et gangrènes gazeuses. En outre, sa responsabilité est suspectée dans la formation de plaques d'athérome et la naissance d'enfants présentant un déficit pondéral.

Physiopathologie

La réaction inflammatoire qui apparaît en réponse à l'accumulation bactérienne s'accompagne d'une augmentation du flux de fluide gingival et de la température ainsi que de l'apparition de saignements. La richesse en protéines du milieu favorise le développement des populations bactériennes asaccharolytiques à Gram négatif anaérobies facultatives et anaérobies strictes avec pour conséquence un appauvrissement du milieu en oxygène. Les conditions sont alors plus favorables à l'établissement de *P. gingivalis*. Il semble que la présence de *F. nucleatum* permette la survie de *P. gingivalis* dans cet environnement qui n'est pas strictement anaérobie. Non seulement *F. nucleatum* permet la coaggrégation entre colonisateurs primaires et secondaires, mais encore il semble fournir à *P. gingivalis* le dioxyde de carbone dont il a besoin. Le pH voisin de la neutralité, dans un premier temps, permet l'action des protéases neutres. Les bactéries ne sont toutefois pas les seules responsables de cette activité protéolytique et de la destruction tissulaire qui l'accompagne; les polynucléaires neutrophiles et macrophages y participent également. *P. gingivalis* utilise comme source d'énergie les peptides libérés grâce à l'action des gingipaïnes. Leur dégradation aboutit à la libération d'ammoniac et d'autres produits alcalins qui augmentent le pH. La légère alcalinité ainsi que l'élévation de température de l'environnement permettent alors la sélection positive de *P. gingivalis*. L'élévation de pH accroît également l'activité protéolytique des gingipaïnes qui peuvent ainsi dégager de nouveaux sites de fixation pour les *fimbriae*.

L'interaction avec les cellules épithéliales, les cellules endothéliales, les polynucléaires neutrophiles ou les macrophages induit la synthèse de cytokines pro-inflammatoires qui accentuent l'inflammation. La libération de vésicules de très petite taille propage cette inflammation à distance. La destruction tissulaire est alors amplifiée. Certains produits métaboliques comme le butyrate, par exemple, aggravent sans doute les lésions en bloquant le cycle cellulaire et en induisant l'apoptose des cellules épithéliales et des fibroblastes. En outre, les gingipaïnes assurent à *P. gingivalis* un apport suffisant en hème en favorisant les saignements.

La réaction immunitaire adaptative qui accompagne l'infection par *P. gingivalis* semble être de type Th2. Ceci pourrait s'expliquer par l'interaction de la majorité des PAMP de *P. gingivalis* (LPS et

fimbriae) avec le TLR2, principalement. La présence de butyrate pourrait également contribuer à cette orientation de la réponse immunitaire. Les réponses Th2 sont caractérisées par la prolifération des lymphocytes B et leur différenciation en plasmocytes. Dans le cas d'une infection par *P. gingivalis*, une proportion importante des anticorps synthétisés est d'isotype IgG2. Cet isotype est caractéristique d'anticorps dirigés contre des polysaccharides (polysaccharides de la capsule et des LPS). Or, les IgG2 ne permettent pas une défense optimale contre ces antigènes et les bactéries qui les portent : elles activent de façon médiocre le système du complément, sont mal reconnues par les récepteurs du fragment cristallisable des IgG et sont très souvent de faible avidité. Ceci a pour conséquence une persistance de l'infection et de la réaction inflammatoire associée. Un taux élevé d'IgG2 a d'ailleurs pu être associé à une aggravation de la perte osseuse. À ce problème s'ajoute l'activité protéolytique des gingipaïnes qui affaiblit les défenses humorales et cellulaires.

L'interaction de *P. gingivalis* avec les cellules de l'hôte induit également la synthèse et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-8 et TNF- α) qui sont impliquées dans la résorption osseuse.

La virulence de *P. gingivalis* est encore accentuée du fait de sa capacité à envahir les cellules eucaryotes et à survivre au sein de ces cellules. Cette internalisation le protège définitivement des mécanismes de défense humoraux. En outre, étant donné que la réaction immunitaire adaptative est de type Th2, les cellules infectées peuvent échapper plus facilement aux macrophages et cellules NK. L'inhibition de l'apoptose des cellules épithéliales infectées participe également à la protection de *P. gingivalis*. L'invasion cellulaire et la survie au sein des cellules pourraient expliquer les cas de récurrence observés et le fait que le génotype retrouvé lors d'une récurrence est identique à celui qui était présent avant traitement.

Épidémiologie

La transmission de *P. gingivalis* se fait par contact direct ou par contagion. Étant donné ses exigences culturelles, il ne survit vraisemblablement pas longtemps dans le milieu extérieur. Sa prévalence augmente avec l'âge et est corrélée à l'existence d'une parodontite associée à une hygiène bucco-dentaire médiocre. Cependant, même s'il ne semble s'établir véritablement dans la cavité buccale qu'après la puberté, *P. gingivalis* peut être occasionnellement isolé en faible nombre de la cavité buccale d'individus sains, y compris chez de très jeunes enfants lorsque la mère est infectée. Dans un site donné, l'augmentation du nombre de bactéries constitue un facteur de risque d'aggravation de la destruction parodontale. La majorité des patients atteints sont infectés par des organismes porteurs de *fimbriae* de type II et il existe une corrélation positive entre la présence de ce type de *fimbriae* et la sévérité des parodontites. Les infections semblent pauci-clonales.

Sensibilité aux antibiotiques

La plupart des souches de *P. gingivalis* est sensible aux antibiotiques généralement utilisés dans les traitements des affections parodontales : β -lactamines, macrolides, tétracyclines et nitro-imidazolés. Cependant, une proportion non négligeable d'isolats présente une résistance aux β -lactamines (production d'une β -lactamase), aux tétracyclines (présence du gène de résistance *tetQ*) ou aux macrolides (présence du gène de résistance *ermF*). Le traitement de choix pour cet anaérobie strict reste donc le métronidazole.

Prevotella (I. Madinier)

Considérations taxonomiques

En 1990, Shah et Collins ont créé un nouveau genre, *Prevotella* (de Prévot, bactériologiste pasteurien), initialement pour reclasser les *Bacteroides* faiblement saccharolytiques et pigmentés. D'autres espèces non pigmentées ont ensuite été attribuées à ce genre. Les *Prevotella* sont des bacilles à Gram négatif anaérobies stricts (Figure 1.7), fermentatifs et non sporulés, isolés dans la flore digestive des mammifères. Ce sont des bactéries de culture difficile et de croissance lente. Le genre *Prevotella* appartient à la famille des *Prevotellaceae*, ordre des *Bacteroidales*, classe des *Bacteroidetes*, phylum des *Bacteroidetes* (XX) du domaine *Bacteria*. Le genre *Prevotella* comprend 29 espèces cultivables; l'espèce type est *P. melaninogenica* (Euzéby JP, <http://www.bacterio.cict.fr/>). (Tableau 1.7). Les *Prevotella* orales comportent huit espèces pouvant être pigmentées en noir (en caractères gras) et treize espèces non pigmentées : *P. baroniae*, *P. buccae**, *P. buccalis**, *P. dentalis*, *P. denticola**, *P. disiens**(peu fréquente), *P. enoeca*, *P. intermedia**, *P. loescheii**, *P. marshii*, *P. multiformis*, *P. melaninogenica**, *P. nigrescens*, *P. oralis**, *P. oris*, *P. oulorum*, *P. pallens*, *P. salivae*, *P. shabii*, *P. tanneriae*, *P. veroralis*. Seules les espèces marquées d'un astérisque peuvent être identifiées avec la minigalerie d'identification Rapid ID 32 A, en 4 heures (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France). Les 23 espèces énumérées ci-dessus peuvent être identifiées par amplification et séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S. Certaines souches de *Prevotella* identifiées par leur ARN 16S ne sont pas cultivables. Le génome de *P. intermedia* est partiellement séquencé (BLAST, microbial genome database, www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/).

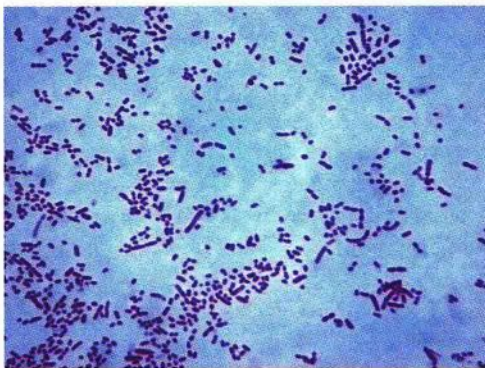
Tableau 1.7 : principales espèces buccales du phylum des *Bacteroidetes*.

Classe	Famille	Genre	Espèces susceptibles d'être isolées dans la flore orale
Bacteroidetes	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>B. heparinolytica</i> , <i>B. zooglyphiformans</i>
	<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>P. asaccharolytica</i> *, <i>P. catoniae</i> , <i>P. endodontalis</i> *, <i>P. gingivalis</i> *
		<i>Tannerella</i>	<i>T. forsythia</i>
	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>P. baroniae</i> , <i>P. buccae</i> *, <i>P. buccalis</i> *, <i>P. dentalis</i> , <i>P. denticola</i> *, <i>P. enoeca</i> , <i>P. intermedia</i> *, <i>P. loescheii</i> *, <i>P. marshii</i> , <i>P. melaninogenica</i> *, <i>P. multiformis</i> , <i>P. oralis</i> *, <i>P. oris</i> , <i>P. oulorum</i> , <i>P. nigrescens</i> , <i>P. pallens</i> , <i>P. salivae</i> , <i>P. shabii</i> , <i>P. tanneriae</i> , <i>P. veroralis</i>
Flavobacteria	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Capnocytophaga</i> *	<i>C. gingivalis</i> , <i>C. granulosa</i> , <i>C. haemolytica</i> , <i>C. ochracea</i> , <i>C. sputigena</i>
		<i>Chrysobacterium</i> <i>Flavobacterium</i>	
Fusobacteria	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>F. necrophorum</i> *, <i>F. nucleatum</i> *, <i>F. periodonticum</i>
		<i>Leptotrichia</i>	<i>L. buccalis</i> * <i>L. hofstadii</i> <i>L. shabii</i> <i>L. wadei</i>
		<i>Streptobacillus</i>	

En caractères gras : espèces souvent pigmentées en noir

* Genres ou espèces pouvant être identifiées en 4 heures avec la minigalerie d'identification Rapid ID 32 A (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)

Figure 1.7 : *Prevotella* après coloration de Gram.



Écologie et habitat

Les *Prevotella* colonisent les biofilms plus ou moins matures qui recouvrent toutes les surfaces orales, y compris le sulcus gingival et tous les matériaux utilisés en odontologie conservatrice et en prothèse. Elles colonisent aussi les poches parodontales, les lésions carieuses et endodontiques ainsi que les pores des résines utilisées dans les bases des prothèses amovibles. Avec les techniques phénotypiques d'isolement et d'identification utilisées en routine, une ou plusieurs espèces de *Prevotella* sont souvent isolées de tous les prélèvements bactériologiques oraux. Elles sont numériquement importantes dans les prélèvements de poches parodontales et de suppurations odontogènes (abcès apical ou parodontal). Toutes ces niches écologiques sont colonisées par des écosystèmes polymicrobiens.

Isolement

Pour l'isolement des bactéries anaérobies strictes, les prélèvements bactériologiques oraux doivent être envoyés dans les meilleurs délais au laboratoire dans un flacon de transport anaérobie. L'échantillon est mis en suspension dans 1 mL de milieu Schaedler au fauteuil, puis injecté dans le flacon à travers le bouchon.

Au laboratoire, l'inoculum est ensemencé pur et dilué (10^{-2} et 10^{-4}) sur gélose au sang avec vancomycine et kanamycine en anaérobiose : sélection des bacilles à Gram négatif anaérobies stricts (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, etc.).

Le prélèvement initial et les boîtes anaérobies doivent rester le moins longtemps possible à l'air libre, environ 20 à 30 minutes. Les cultures anaérobies sont réalisées sous sachet scellé ou en jarre contenant un sachet générateur d'anaérobiose, ou en enceinte anaérobie.

Caractères bactériologiques

Les espèces pigmentées de *Prevotella* donnent après quelques jours des colonies beiges puis noires. Certaines souches sont fluorescentes en lumière ultraviolette, et l'apparition de la pigmentation cache la fluorescence. Les autres espèces donnent des colonies blanches, grises ou beiges, plus ou moins muqueuses ou nauséabondes, souvent très petites.

Caractères biochimiques

Identification du genre

Historiquement, les tests classiques d'identification des bactéries anaérobies strictes de la flore orale sont basés sur leurs caractères culturels en présence de disques de bile et de vert brillant, la pigmentation des colonies et l'hydrolyse des glucides. Les *Prevotella* sont sensibles à la bile et au vert brillant :

- soit non pigmentées, saccharose-négatif (*P. bivia*, *P. disiens*) ou saccharose-positif (*P. buccae*, *P. oralis*, *P. oris*) ;
- soit pigmentées, faiblement à modérément saccharolytiques (*P. melaninogenica* et autres espèces pigmentées).

Actuellement, l'identification au rang de genre des *Prevotella* est obtenue en routine avec la minigalerie Rapid ID 32 A (bioMérieux, Marcy l'Étoile). Cette minigalerie permet l'identification des bactéries anaérobies en 4 heures, avec 29 tests miniaturisés. Il s'agit de tests enzymatiques : les minigalleries sont donc incubées à 36°C mais à l'air libre.

Identification de l'espèce

Après lecture visuelle de la minigalerie Rapid ID 32 A, les réactions enzymatiques obtenues sont codées en un profil numérique. L'identification au rang d'espèce se fait à partir de la base de données, sous forme de probabilité qui doit être $\geq 99\%$ pour que l'identification soit correcte. Si la probabilité d'identification correcte est $< 99\%$, ou si le profil de sensibilité aux antibiotiques ne correspond pas au profil attendu de l'espèce, seul le séquençage des ARN 16S permet l'identification au rang d'espèce. En pratique, la minigalerie Rapid ID 32 A donne une faible discrimination entre *P. buccalis*, *P. denticola*, *P. loescheii* et *P. oralis*. L'espèce *P. oralis* apparaît particulièrement hétérogène après identification par séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. *P. intermedia* et *P. nigrescens* ne peuvent être différenciées par les méthodes biochimiques usuelles.

Pouvoir pathogène

Les *Prevotella* sont particulièrement associées aux maladies parodontales, au noma, aux abcès odontogènes et aux péricoronarites. Toutes ces formes locales d'infection peuvent évoluer en infection loco-régionale accompagnée de signes généraux. Sans traitement, le risque d'infection systémique est élevé. Les *Prevotella* n'ont pas les propriétés d'adhérence aux surfaces inertes des streptocoques oraux. Elles sont donc rarement isolées dans les infections sur corps étranger comme les prothèses cardiaques ou les prothèses de hanche, mais elles peuvent être isolées dans des hémocultures au cours de pics fébriles, de septicémies et d'endocardites infectieuses. Les *Prevotella* sont aussi souvent responsables de sinusite, de pneumonie d'inhalation, d'arthrite septique, d'ostéomyélite, de médiastinite, d'abcès pulmonaires, hépatiques et cérébraux. Ces abcès à distance sont presque toujours monomicrobiens.

Virulence bactérienne

Fimbriae et hémagglutinines

Les espèces de *Prevotella* qui ont été observées en microscopie électronique présentent des *fimbriae* associés à la coagréation interbactérienne ou à la fixation aux cellules de l'hôte :

- Chez *P. loescheii*, les *fimbriae* permettent la coagréation avec d'autres espèces bactériennes de la plaque dentaire, en particulier *Actinomyces viscosus* et *Streptococcus sanguinis*. Certaines souches de

P. intermedia expriment des récepteurs membranaires spécifiques de facteurs d'adhérence de *Porphyromonas gingivalis*, ou de *fimbriae* de *Streptococcus sanguinis*.

- Certaines souches de *P. intermedia* peuvent envahir les cellules épithéliales *in vitro*, ce qui nécessite la production de *fimbriae* de type C.
- Enfin, 88,5 % des *P. intermedia* et 4,5 % des *P. nigrescens* ont une activité hémagglutinine associée aux *fimbriae*, codée par le gène *phg*, et qui permet leur fixation aux érythrocytes. L'hémagglutination est optimale à pH 7,0. Il existe deux types d'activité hémagglutinine associée aux *fimbriae* : une activité thermolabile associée à un peptide de 3,8 kDa, et une activité thermostable due à des composants proches des LPS. Les souches produisant une hémagglutinine ne forment pas un groupe homogène dans le genre *Prevotella*, bien que les *Prevotella* ne poussent que sur des milieux enrichis au sang.

Lipopolysaccharides (LPS)

Comme toutes les bactéries à Gram négatif, les *Prevotella* portent des lipopolysaccharides (LPS). Les LPS d'espèces pigmentées comme *P. denticola*, *P. intermedia* et *P. melaninogenica* sont hémagglutinants. *In vitro*, le LPS de *P. intermedia* agirait aussi :

- sur les fibroblastes pulpaire : expression des gènes IL-10R et VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor* : expansion du réseau vasculaire) ;
- sur les macrophages : augmentation de la production d'oxyde nitrique, d'interleukine-6 (IL-6) et de métalloprotéinases de la matrice osseuse ;
- sur les ostéocytes : diminution de la différenciation et de la minéralisation.

Le LPS de *P. intermedia* participerait ainsi à l'inflammation dans les maladies parodontales et les pulpites, ainsi qu'à la résorption de l'os alvéolaire et à l'inhibition de la formation osseuse.

Le rôle des *Prevotella* dans l'inflammation est cependant ambigu. En effet, la réponse de l'hôte aux LPS est aussi associée aux récepteurs CD14 et LBP (*LPS-Binding Protein*). Certaines souches de *P. intermedia* produisent une protéase de 170 kDa associée à leur membrane, capable de cliver les protéines CD14 et LBP, et de moduler la virulence du LPS. Cette métallo-enzyme est aussi capable, *in vitro*, de diminuer l'expression d'IL-1bêta dans les macrophages activés par les LPS.

Capsule

Certaines souches de *Prevotella* ont une capsule polysaccharidique bien visible en microscopie électronique, en particulier *P. melaninogenica* et *P. oralis*. La partie superficielle de la capsule de *P. buccae* a des propriétés mitogènes avec activation polyclonale des lymphocytes B et synthèse d'anticorps non spécifiques.

Pigment

Les espèces pigmentées comme *P. intermedia* et *P. melaninogenica* produisent des hémagglutinines associées aux *fimbriae* ou au LPS pour fixer les érythrocytes, puis des hémolysines (lipases) pour lyser les érythrocytes, et enfin des pigments noirs dérivés de l'hémoglobine. *P. intermedia* et *P. nigrescens* dégradent l'oxyhémoglobine pour former un intermédiaire [Fe (III) PPIX] (2) 0, qui est ensuite converti en Fe (III) PPIX. OH quand le pH diminue de 7,5 à 6,5. Un pH bas favorise le dépôt de Fe (III) PPIX. OH insoluble à la surface des cellules, qui agirait comme une barrière contre l'oxygène et les dérivés oxygénés actifs. Il protégerait aussi les bactéries du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ grâce à son activité catalase intrinsèque.

Enzymes

Outre les enzymes « de ménage » usuelles, les *Prevotella* sont diversement équipées en enzymes non exportables ou diffusibles qui dénaturent les constituants du tissu conjonctif et favorisent l'invasion

bactérienne dans les stades avancés de l'infection. Elles peuvent produire des enzymes impliquées dans le métabolisme :

- de l'azote : collagénases (*P. buccae*, *P. denticola*, *P. oralis*), protéases hydrolysant la fibronectine (*P. intermedia*), les immunoglobulines (*P. melaninogenica* : IgA1) ou autres;
- du phosphore : phosphatases (*P. buccae*, *P. intermedia*, *P. oris*);
- des lipides : hémolysines (*P. intermedia*, *P. melaninogenica*), lécithinases (*P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. melaninogenica*), lipases et estérases (*P. intermedia*, *P. loescheii*);
- des glucides : chondroïtine sulfatase et mucin-desulfating sulfatase de 58 kDa (*Prevotella* spp.), dextranase de 56 kDa (*P. loescheii*, *P. melaninogenica*, *P. oralis*).

P. intermedia peut utiliser les hormones stéroïdes (cortisone, corticostéroïdes) comme facteur de croissance à la place de la vitamine K.

Au total, toutes les *Prevotella* sont faiblement saccharolytiques, mais *P. bivia*, *P. disiens* et *P. intermedia* sont très protéolytiques.

Résidus métaboliques

Les produits majeurs du métabolisme des bactéries anaérobies strictes sont des acides gras volatils à chaîne courte cytotoxiques (succinate, butyrate, isobutyrate, isovalérate, etc.). Ils diminuent la synthèse d'IL-2, -4, -5, -6 et 10 par les lymphocytes T, et auraient un rôle important dans la pathogenèse des maladies parodontales. La production d'acide butyrique par *P. loescheii* induit l'apoptose cellulaire *in vitro*. Une diminution des défenses immunitaires de l'hôte interviendrait dans la pathogenèse des maladies parodontales. De plus, dans les écosystèmes, ces résidus métaboliques servent de substrats à d'autres espèces bactériennes orales.

Protéines membranaires identifiées chez *P. intermedia*

Aucune espèce de *Prevotella* ne produit de toxine au sens usuel du terme, mais certaines souches peuvent synthétiser des protéines membranaires qui interagissent *in vitro* avec les kératinocytes gingivaux, les lymphocytes B et T, les fibroblastes endodontiques et gingivaux, la lactoferrine, le collagène et les immunoglobulines de type IgG.

Une fraction glycoprotéique de la membrane cellulaire de certaines souches de *P. intermedia* augmente la libération d'IL-8, de *granulocyte- et macrophage-colony stimulating factors*, et augmente aussi l'expression de l'ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*) par les kératinocytes gingivaux. Cette molécule provoquerait l'accumulation et l'activation des polynucléaires neutrophiles dans les épithéliums, et contribuerait ainsi à l'initiation et au développement de l'inflammation dans les tissus parodontaux. *P. loescheii* et *P. intermedia* peuvent produire un agent thermolabile de 50 kDa. Cet agent inhibe *in vitro* la prolifération des lymphocytes T, et les récepteurs CD69 et à l'IL-2 en surface des lymphocytes T.

Certaines souches de *P. intermedia* produisent une protéine de surface de 55 kDa, dont la séquence présente peu d'homologie avec d'autres séquences obtenues chez les *Bacteroidetes* pigmentés en noir. Cette protéine augmenterait la synthèse d'IL-1 alpha, -1 bêta, -6, -8 et de TNF alpha (*Tumor Necrosis Factor*) par les lymphocytes T, et la synthèse d'IL-1 bêta et -6 par les fibroblastes endodontiques et gingivaux.

Certaines souches augmenteraient l'expression des récepteurs CD80/86 et CD83 des lymphocytes B, qui présentent l'antigène aux lymphocytes T. Ces derniers produiraient alors plus d'interféron gamma et moins d'IL-5.

Certaines souches captent mieux le fer du milieu extérieur grâce à des récepteurs membranaires qui fixent la lactoferrine produite par d'autres cellules, puis elles la dégradent avec leurs protéases.

Certaines souches synthétisent un récepteur qui fixe le collagène, permettant à la bactérie de se fixer à la matrice des tissus de l'hôte.

Enfin, certaines souches de *P. intermedia* peuvent fixer la fraction Fc des IgG grâce à un récepteur membranaire externe d'environ 65 kDa.

Physiopathologie de l'infection

Aucune bactérie orale du phylum des *Bacteroidetes* n'a fait la preuve d'un pouvoir pathogène spécifique. Aucun facteur de virulence n'est spécifiquement associé à une pathologie donnée. Les *Prevotella* joueraient cependant un rôle important dans la physiopathologie des infections à point de départ bucco-dentaire, en raison de leur masse dans les biofilms et de leur métabolisme anaérobie strict fermentaire. Elles interviendraient sur la diminution des défenses immunitaires et sur les écosystèmes oraux. Les *Bacteroidetes* constitueraient une flore de surinfection d'une infection virale sous-jacente (*Herpesviridae*), ce qui est couramment décrit pour les infections des muqueuses digestives et des voies respiratoires. De plus, il existe dans la flore orale des bactéries sulfato-réductrices qui utilisent les résidus organiques de faible poids moléculaire du métabolisme des bactéries fermentaires comme les *Prevotella*. Elles produisent de l'hydrogène sulfuré (H_2S) qui est corrosif et cytotoxique, et pourrait participer à l'initiation des parodontites.

Sensibilité aux antibiotiques

Les *Prevotella* sont les principales espèces orales cultivables productrices de β -lactamases, donc résistantes à l'amoxicilline, surtout pour les espèces *P. buccae* et *P. intermedia*, *P. bivia*, *P. disiens* et *P. denticola*. La résistance est due à la production de β -lactamases de classe A/groupe 2^e, c'est-à-dire des céphalosporinases ayant des propriétés de pénicillinases. Les souches sont résistantes à la ticarcilline, à la céphalotine, au céfuroxime et à la céfazoline, de sensibilité intermédiaire à la céfoxitine, au ceftiofène et au céfotaxime, et sensibles à l'association amoxicilline-acide clavulanique, à la ceftazidime, à l'imipénème et à l'aztréonam. Toutes les enzymes séquencées pour l'instant présentent la substitution E272K caractéristique de CfxA2, qui est une enzyme étroitement associée à la membrane bactérienne interne, non exportable dans le milieu extérieur. Chez *Prevotella*, cette enzyme est codée par un transposon chromosomique.

Capnocytophaga (I. Madinier)

Considérations taxonomiques

En 1982, Leadbetter et coll. ont créé un nouveau genre, *Capnocytophaga*, pour regrouper des bactéries exigeantes en CO_2 c'est-à-dire capnophiles (d'où leur nom), à Gram négatif, fermentaires, immobiles, fusiformes ou filamenteuses. Le genre *Capnocytophaga* appartient à la famille des *Flavobacteriaceae*, ordre des *Flavobacterales*, classe des *Flavobacteria*, phylum des *Bacteroidetes*, domaine des *Bacteria*. L'espèce type est *Capnocytophaga ochracea* (Tableau 1.7). Ce genre comprend sept espèces cultivables, dont cinq sont susceptibles d'être isolées dans la flore orale : *C. gingivalis*, *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. ochracea* et *C. sputigena* (Euzéby JP, <http://www.bacterio.cict.fr/>).

La minigalerie d'identification Rapid ID 32 A (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) ne permet pas d'identifier les *Capnocytophaga* au rang d'espèce, mais seulement au rang de genre. Les cinq espèces ci-dessus peuvent être identifiées par amplification et séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S. Certaines souches de *Capnocytophaga* identifiées par leur ARN 16S ne sont pas cultivables. Aucun génome de *Capnocytophaga* n'est actuellement séquencé.

Écologie et habitat

Les *Capnocytophaga* font partie de la flore normale qui colonise les muqueuses orales. Ils sont assez souvent isolés dans les poches parodontales, plus rarement dans des abcès apicaux et parodontaux, exceptionnellement dans des abcès viscéraux. Les *Capnocytophaga* peuvent être isolés dans la gorge, les crachats et les hémocultures des malades immunodéprimés.

Isolement

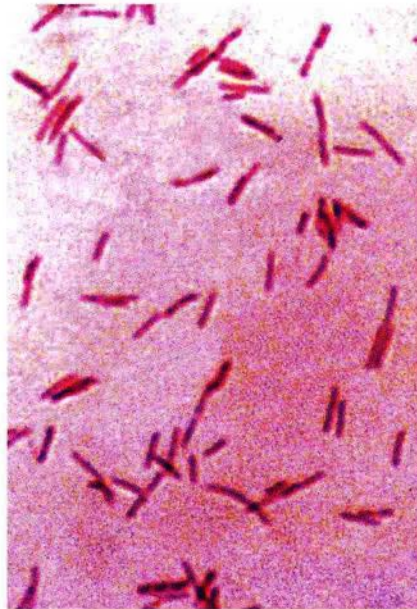
Les bactéries orales microaérophiles comme *Capnocytophaga*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, etc. sont isolées sur gélose chocolat (sang cuit) sous 5% de CO₂. Les cultures sont réalisées sous sachet scellé contenant un générateur de CO₂, ou dans une étuve à CO₂. Les boîtes sont incubées deux semaines à 37°C.

Caractères bactériologiques

Morphologie

Ces bacilles à Gram négatif fusiformes (Figure 1.8) ressemblent aux *Fusobacterium*, mais contrairement à la plupart des *Fusobacterium*, les *Capnocytophaga* sont toujours résistants au métronidazole. En microscopie électronique, ils sont dépourvus de capsule et de *fimbriae*.

Figure 1.8 : *Capnocytophaga* après coloration de Gram.



Caractères cultureux

Comme toutes les bactéries orales du *phylum* des *Bacteroidetes*, les *Capnocytophaga* sont de culture difficile et de croissance lente, et beaucoup d'entre elles restent sans doute à identifier. La question

des cellules viables mais non cultivables (VNC) reste posée. Les *Capnocytophaga* poussent sur tous les milieux en présence de 5 % de CO₂. Sur les milieux usuels, ils glissent pour donner des colonies étoilées pigmentées en jaune, et qui creusent la gélose après plusieurs jours d'incubation. La nature du pigment n'est pas élucidée.

Caractères biochimiques

Identification du genre

Les *Capnocytophaga* sont souvent isolés la première fois en anaérobiose et poussent ensuite sous CO₂ sur tous les milieux, contrairement aux autres genres du *phylum* des *Bacteroidetes*. La catalase et l'oxydase sont négatives. Sur les minigalleries d'identification Api 20A (bioMérieux, Marcy-l'Étoile), les *Capnocytophaga* ressemblent à *Bacteroides fragilis*, excepté le caractère xylose-négatif. Les *Capnocytophaga* fermentent les hydrates de carbone, et la fermentation du glucose donne de l'acide acétique et de l'acide succinique.

Identification de l'espèce

En pratique, les minigalleries Api 20A et Rapid ID 32 A (bioMérieux, Marcy-l'Étoile) ne permettent pas de différencier les espèces du genre *Capnocytophaga*. Seul le séquençage des ARN 16S permet l'identification au rang d'espèce (cf. § *Prevotella*).

Pouvoir pathogène

Chez les sujets sains, les *Capnocytophaga* peuvent être associés aux maladies parodontales. Il s'agit d'une prolifération bactérienne mixte, et non d'une infection bactérienne. Il n'y a jamais de fièvre. Ils peuvent aussi être associés au noma, aux abcès odontogènes, aux péricoronarites, avec des signes généraux. Chez les malades immunodéprimés, surtout ceux atteints d'hémopathies malignes, les mucites sont des ulcérations recouvertes d'un biofilm fibrineux colonisé par la flore endogène : streptocoques oraux, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Candida* spp. Les mucites peuvent provoquer des bactériémies à *Capnocytophaga* ou autre, surtout chez les malades neutropéniques (leucocytes < 1 000/μL). Les pics fébriles restent souvent non documentés.

Les *Capnocytophaga* peuvent aussi provoquer des abcès cérébraux, cervicaux, ou hépatiques chez des sujets immunocompétents ou immunodéprimés. *C. canimorsus*, qui fait partie de la flore orale du chien, est parfois responsable d'endocardites infectieuses, méningites et sepsis sévères dont la porte d'entrée est une morsure.

Virulence bactérienne et physiopathologie de l'infection

Facteurs de virulence

Adhésines

C. ochracea peut synthétiser une adhésine polypeptidique de 155 kDa localisée dans sa membrane externe, qui reconnaît un récepteur polysaccharidique et assure la coagrégation avec des bactéries orales à Gram positif (*Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii*, *Rothia*). *C. gingivalis* peut synthétiser un polypeptide de 140 kDa qui permet sa coagrégation avec *A. israelii*.

Lipopolysaccharides (LPS)

Les cellules humaines portent un récepteur pour les LPS (TLR 4), dont la fixation provoque la libération de médiateurs responsables des effets toxiques des LPS : activation des voies de l'inflam-

mation et de la coagulation. Contrairement à *Prevotella intermedia*, les LPS de *C. ochracea* agissent comme des antagonistes des TLR 4, ce qui inhibe la synthèse d'interleukines-1 et -6 par les lymphocytes, et la synthèse d'ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*) par les fibroblastes gingivaux. Les LPS de *C. ochracea* agissent aussi sur les lymphocytes B (induction d'auto-anticorps anti-thymocytes et anti-lymphocytes T), et sur les polynucléaires (faible libération d'IL-1 β , d'IL-8 et de TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*)). Leur action sur les polynucléaires est beaucoup moins marquée que celle d'*Escherichia coli*. Seuls les LPS de *C. gingivalis* ont une activité hémagglutinante.

Enzymes

Les *Capnocytophaga* se distinguent des autres bactéries anaérobies orales par une forte activité aminopeptidase, sauf *C. sputigena* qui se caractérise par une élastase. *C. gingivalis* synthétise une aminopeptidase membranaire de 61 kDa. La lactoferrine produite par d'autres cellules est dégradée par *C. sputigena*, plus faiblement par *C. ochracea*, mais pas par *C. gingivalis*. Tous les *Capnocytophaga* ont une protéase membranaire partiellement relarguée en phase stationnaire capable de cliver les immunoglobulines IgA1. Les séquençages ont montré deux groupes d'homologie pour cette protéase : *C. ochracea*-*C. sputigena*-*C. haemolytica* et *C. gingivalis*-*C. granulosa*. Son rôle reste mal défini, car les IgA1-protéases ne sont pas une propriété exclusive de bactéries virulentes.

C. ochracea, et une seule souche connue de *C. sputigena*, produisent une dextranase de 56 kDa similaire à celle produite par certaines souches de *Prevotella*, et qui ne présente pas d'homologie de séquence significative avec la dextranase de *S. mutans*.

Protéines de *C. ochracea*

Certaines souches de *C. ochracea* synthétisent une protéine non diffusible de 14 kDa qui inhibe la prolifération des lymphocytes *in vitro*. D'autres souches synthétisent une protéine diffusible qui inhibe la prolifération des fibroblastes *in vitro*.

Physiopathologie de l'infection

Au total, les *Capnocytophaga* n'ont pas de facteur de virulence spécifique. Tous les facteurs de virulence potentiels (LPS, IgA-protéase, protéines diffusibles) ont une activité beaucoup plus faible que ceux de bactéries ayant un pouvoir pathogène bien documenté comme *E. coli*. Les bases fondamentales du pouvoir pathogène des *Capnocytophaga* restent à expliquer, en particulier dans les mucites et autres infections chez les malades neutropéniques.

Sensibilité aux antibiotiques

En règle générale, *Capnocytophaga* est une bactérie microaérophile qui présente une résistance naturelle au métronidazole. Par contre, il est sensible à l'amoxicilline, aux macrolides et aux tétracyclines. Quelques souches de *Capnocytophaga* sont résistantes à l'amoxicilline par production de β -lactamases. *Capnocytophaga* peut aussi être résistant à l'érythromycine et à la tétracycline.

***Actinobacillus actinomycetemcomitans* (M. Sixou)**

Considérations taxonomiques

La première description de *A. actinomycetemcomitans* remonte à 1912 grâce à un microbiologiste allemand, R. Klinger, qui isole ce micro-organisme chez l'homme à partir d'une lésion actinomycotique cervico-faciale. En raison de son association avec des *Actinomyces israelii*, il fut baptisé

Bacterium actinomycetemcomitans. En 1929, Topley et Wilson furent les premiers à proposer l'appartenance de ce micro-organisme au genre *Actinobacillus* sous le nom d'*Actinobacillus actinomycetemcomitans* qui reste de nos jours l'appellation officielle, reprise dans la dernière édition de 1983 du *Bergey's manual*.

À ce jour, *A. actinomycetemcomitans* est classé dans la cinquième section des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatifs de l'édition 1984 du *Bergey's manual*. Il appartient à la famille des *Pasteurellaceae* dans laquelle sont retrouvés les genres *Actinobacillus*, *Haemophilus* et *Pasteurella*. Le genre *Actinobacillus* est constitué de 18 espèces (Euzéby JP, <http://www.bacterio.cict.fr/>). Mais le *Bergey's manual* ne retient que 5 espèces types : *A. actinomycetemcomitans*, *A. capsulatus*, *A. equuli*, *A. lignieresii* et *A. suis*. Leur G+C est compris entre 40 et 43 %. Toutes les nouvelles espèces proposées ces dernières années sont des espèces d'origine animale (*A. delphinicola*, *A. muris*, *A. rossii*, *A. seminis*...).

Écologie et Habitat

A. actinomycetemcomitans constitue une espèce bien individualisée sur le plan biochimique et génétique. Il appartient à la flore commensale de la cavité buccale de l'homme avec une fréquence d'environ 25 % chez le sujet jeune et sain. Il n'est pas retrouvé dans l'environnement ou chez les animaux.

Isolément

Il peut être isolé sur gélose Columbia enrichie avec 5 % de sang de mouton, mais n'a besoin ni du facteur X, ni du facteur V pour se développer. La culture est favorisée par une atmosphère contenant 5 à 10 % de CO₂. Deux milieux de culture sélectifs d'utilisation courante en bactériologie des infections bucco-dentaires ont été décrits pour *A. actinomycetemcomitans* : le TSBV de Slots (1982) et le MGB modifié de Mandell (1986).

Le TSBV de Slots se compose d'une base gélosée trypticase soja-levure enrichie de 10 % de sérum de cheval et dont la sélectivité est accrue par 75 mg/L de bacitracine et 5 mg/L de vancomycine. Le milieu TSBV permet une croissance plus abondante de *A. actinomycetemcomitans* que le milieu non sélectif au sang. En l'absence de sang, les espèces du genre *Haemophilus* qui requièrent les facteurs V et X sont inhibées.

Le MGB modifié de Mandell se compose d'une base gélosée trypticase soja enrichie de 5 % de sang de mouton et de 128 mg/L de bacitracine et 4 mg/L de vert de malachite. La croissance de *A. actinomycetemcomitans* est moins abondante que sur le TSBV.

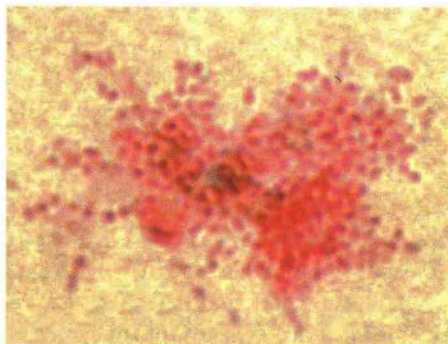
Caractères bactériologiques

Morphologie microscopique

A. actinomycetemcomitans est un petit organisme polymorphe qui peut présenter une forme sphérique de 0,5 µm de diamètre ou une structure plus allongée de court bacille droit ou incurvé de 1,5 µm de long. On parle alors de structure cocco-bacillaire. La mise au point du microscope optique se révèle souvent laborieuse. Il s'agit d'un micro-organisme immobile, à Gram négatif, qui ne présente pas de véritable capsule (Figure 1.9). Des *fimbriae* sont fréquemment observés sur des souches fraîchement isolées. Par contre, après quelques dizaines de subcultures, ces structures disparaissent.

Une grande similitude morphologique est observée au microscope entre *A. actinomycetemcomitans* et un certain nombre d'autres micro-organismes également à culture difficile : *Haemophilus*, *Brucella* ou *Bordetella*.

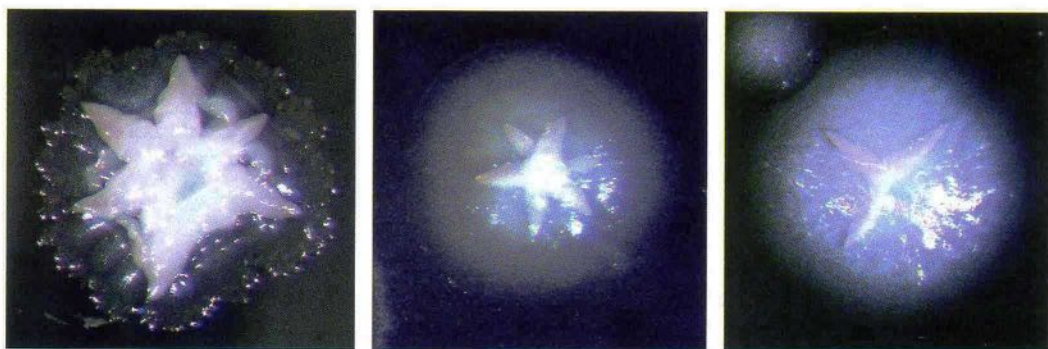
Figure 1.9 : A.a., coloration de Gram.



Caractères cultureux

A. actinomycetemcomitans se développe très difficilement dans des conditions d'aérobiose classique. Il nécessite 5 à 10% de CO₂ dans l'air, ou des conditions de développement en anaérobiose (bactérie capnophile). Sur milieu gélosé, il forme de très petites UFC (unités formant des colonies) de 0,5 à 1 mm de diamètre, en 48 à 72 heures. Ces UFC, extrêmement difficiles à identifier à l'œil nu, sont lisses, circulaires, convexes et translucides. Les bords sont souvent irréguliers. Le centre de l'UFC présente une forme d'étoile à 4 ou 6 branches (Figure 1.10). Ces UFC adhèrent fortement à la gélose. Mais après plusieurs subcultures, leur phénotype change : elles perdent leur structure en étoile, deviennent mucoïdes et n'adhèrent plus à la gélose.

Figure 1.10 : aspects des colonies de A.a.



Le développement de ce micro-organisme en milieu liquide est très lent. Il forme de petits granules qui sédimentent au fond du tube et adhèrent aux parois de celui-ci ; le reste du milieu demeure limpide. Ces granules sont très difficiles à émulsionner et peuvent souvent laisser croire que la culture est négative. Cependant, après un grand nombre de subcultures, *A. actinomycetemcomitans* devient moins adhérent et forme un trouble homogène en milieu liquide.

La température idéale de croissance de ce germe est de 37°C. La croissance est totalement inhibée en dessous de 25°C et au-dessus de 45°C. Les milieux de culture conseillés sont la gélose au sang, le Wilkins-Chalgren® et la gélose au chocolat.

Caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques positifs de *A. actinomycetemcomitans* sont la présence d’une catalase, la réduction des nitrates en nitrites et la fermentation d’un certain nombre d’hydrates de carbone.

Ce germe n’est pas hémolytique. Il est indole négatif, gélatine négatif, urée négatif, bêta-glucosidase négatif et alpha-galactosidase négatif. La production de H₂S est variable.

Il fermente toujours le fructose, le glucose et le maltose.

Classiquement, les études taxonomiques font intervenir les analyses des acides gras libérés par la bactérie étudiée, des protéines solubles, la mesure du rapport Guanine/Cytosine (G/C), des hybridations moléculaires ADN/ADN. Différentes études moléculaires faisant intervenir la mesure du ratio G/C et des hybridations ADN/ADN ont clairement montré le lien taxonomique étroit entre *A. actinomycetemcomitans* et *Haemophilus aphrophilus*. Ces études ont confirmé les similitudes déjà observées sur le plan biochimique et traduisent les relations taxonomiques de ces deux espèces au niveau de la famille et du genre.

Marqueurs épidémiologiques

Des études de fermentation d’hydrates de carbone ont permis de définir 3 à 10 sous-groupes biochimiques de *A. actinomycetemcomitans* appelés biotypes et dont la différenciation est basée sur des variations de fermentation de différents carbohydrates (Tableau 1.8) : dextrine, galactose, maltose, mannitol et xylose.

Tableau 1.8 : biotypes de *A. actinomycetemcomitans*.

Biotypes	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Sucres										
Dextrine	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Mannitol	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
Xylose	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-

Différents sérotypes ont été définis sur la base de la présence de déterminants antigéniques, mais la traduction clinique de ces derniers est plus en relation avec une distribution géographique qu’avec une pathogénicité des populations bactériennes.

Les méthodes moléculaires sont aujourd’hui les plus performantes dans le cadre du suivi épidémiologique des transmissions d’*A. actinomycetemcomitans*.

Pouvoir pathogène et facteurs de virulence

Les facteurs de virulence caractérisés chez *A. actinomycetemcomitans* sont nombreux.

De fortes proportions de mannose ont été retrouvées parmi les sérotypes a, b et c de *A. actinomycetemcomitans* au niveau de la surface bactérienne. Elles peuvent être à l’origine de propriétés d’adhésion

de cette bactérie aux cellules épithéliales buccales. Par ailleurs, l'existence de *fimbriae* et de pili chez certaines souches peut augmenter leur adhérence par rapport aux souches n'en possédant pas.

A. actinomycetemcomitans produit différents facteurs de virulence qui possèdent des capacités d'inhibition des défenses de l'hôte. L'un des facteurs les plus étudiés est la leucotoxine. Molécule thermolabile de 115 kDa chez *A. actinomycetemcomitans*, elle est capable de lyser *in vitro* des polynucléaires neutrophiles et des monocytes humains en provoquant des perturbations dans la structure des membranes et des cellules. Toutes les souches de *A. actinomycetemcomitans* ne produisent pas les mêmes quantités de leucotoxine. Il a été mis en évidence dans un même site parodontal plusieurs souches de *A. actinomycetemcomitans* produisant chacune des quantités très différentes de leucotoxines (certaines n'en produisant pas du tout). La leucotoxine peut diminuer la réponse immunitaire locale, mais peut également être responsable de la libération d'enzymes par destruction des polynucléaires et des monocytes et ainsi léser les tissus environnants. De plus, il a été montré que les souches de *A. actinomycetemcomitans* non productrices de leucotoxine étaient plus sensibles à l'action d'extraits enzymatiques de leucocytes que les souches productrices (Y4, collection FDC).

A. actinomycetemcomitans possède d'autres facteurs de virulence capables d'agir sur la réponse immunitaire de l'hôte : un facteur qui inhibe le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles et un facteur de résistance à la lyse par les protéines du complément. La production d'une catalase peut également jouer un rôle important dans les mécanismes de résistance de *A. actinomycetemcomitans* vis-à-vis de la production de composés oxygénés toxiques par des cellules de défense de l'hôte (peroxyde d'hydrogène).

A. actinomycetemcomitans peut également provoquer la destruction des tissus de l'hôte par l'intermédiaire d'un lipopolysaccharide (LPS) qui a une structure proche de ceux rencontrés chez la plupart des autres micro-organismes à Gram négatif. Ce LPS peut intervenir dans différents mécanismes biologiques : réaction de Schwartzman, activation des macrophages, agrégation plaquettaire, résorption osseuse.

D'autres facteurs de virulence chez *A. actinomycetemcomitans* peuvent également provoquer une résorption osseuse : la phosphatase alcaline et la phosphatase acide.

De nombreuses souches d'*A. actinomycetemcomitans* synthétisent des collagénases responsables de la destruction des tissus parodontaux. D'autres facteurs de virulence sont capables d'inhiber la croissance et la prolifération des fibroblastes. L'existence d'une épithéliotoxine a également été démontrée.

Physiopathologie

Historiquement, *A. actinomycetemcomitans* a été isolé dans des lésions actinomycosiques, associé à *Actinomyces israelii*.

A. actinomycetemcomitans a été impliqué dans des méningites, des abcès du cerveau, des ostéomyélites vertébrales, des sinusites, des infections urinaires, des suppurations pleurales, des péricardites, des endocardites et des parodontites agressives.

Mais les deux contextes d'isolement les plus fréquents sont les parodontites et les hémocultures.

La localisation dans la flore buccale favorise la survenue de bactériémies à la suite d'actes habituels comme un détartrage, une pulpectomie ou une extraction.

Le délai moyen entre l'apparition des premiers symptômes et le diagnostic d'endocardite varie de 15 jours à 14 mois avec une valeur moyenne de 3 mois. Ce retard de diagnostic est dû d'une part à

des symptômes insidieux (fièvre, asthénie, amaigrissement, sueurs nocturnes, splénomégalie, anémie, hématurie microscopique), d'autre part aux difficultés de culture et à la croissance lente d'*A. actinomycetemcomitans*.

La détection des bactéries dans le sang par hémoculture est l'examen fondamental du diagnostic d'une endocardite. Le délai d'incubation moyen des hémocultures pour *A. actinomycetemcomitans* est de 7 à 9 jours avec des cas extrêmes de positivité après 25 jours d'incubation.

L'endocardite à *Actinobacillus actinomycetemcomitans* est une affection grave ayant un taux de mortalité de l'ordre de 25 %. La plupart des décès sont dûs à des destructions valvulaires. Ces patients avaient le plus souvent bien réagi au traitement antibactérien.

Cependant, la plupart des connaissances accumulées sur ce micro-organisme proviennent des recherches sur une forme particulière de parodontite agressive : la parodontite agressive localisée (anciennement appelée parodontite aiguë juvénile puis parodontite juvénile localisée). *A. actinomycetemcomitans* est l'agent étiologique responsable de cette maladie qui a permis de démontrer la nature infectieuse des maladies parodontales.

Sensibilité aux antibiotiques

Certains travaux établissent qu'*A. actinomycetemcomitans* est résistant aux bêta-lactamines y compris les céphalosporines de nouvelle génération, et aux nitro-imidazolés.

La plupart des souches semblent sensibles aux aminosides, aux cyclines, aux phénicolés, au cotrimoxazole ainsi qu'à la rifampicine.

***Fusobacterium* (D. Duffaut, P.P. Poulet)**

Considérations taxonomiques

Les *Fusobacterium* sont des bacilles à Gram négatif, fins, à extrémités effilées (en fuseau) ou polymorphes suivant les espèces, immobiles, anaérobies stricts, non sporulés.

D'après l'édition 2001 du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, les *Fusobacterium* sont classés dans la famille des *Fusobacteriaceae* ordre des *Fusobacteriales*, classe *Fusobacteria*, phylum BXXI *Fusobacteria* (Tableau 1.7). Le genre *Fusobacterium* est caractérisé par la production d'acide butyrique comme produit majeur du métabolisme des hydrates de carbone.

Le G + C p 100 du génome des *Fusobacterium* est de 26 à 34 moles selon les espèces.

La taxonomie des espèces et des sous-espèces de *Fusobacterium* a subi plusieurs modifications ces dernières années.

D'après Euzéby (www.bacterio.cict.fr), le genre *Fusobacterium* comprend 14 espèces : *F. alocis* (reclassé *Filifactor alocis* cf. Pasteur), *F. canifelinum*, *F. equinum*, *F. gonidiaformans*, *F. mortiferum*, *F. naviforme*, *F. necrogenes*, *F. necrophorum* subdivisé en 2 sous-espèces (*funduliforme* ex-biovar B, *necrophorum* ex-biovar A), *F. nucleatum* subdivisé en 5 sous-espèces (*animalis*, *fusiforme*, *nucleatum*, *polymorphum*, *vincentii*), *F. perfoetans*, *F. periodonticum*, *F. plautii* (reclassé en *Eubacterium*), *F. polysaccharolyticum* (reclassé en *Clostridium*), *F. prausnitzii* (reclassé en *Faecalibacterium prausnitzii*), *F. pseudonecrophorum* (synonyme de *F. varium*), *F. russii*, *F. simiae*, *F. sulci* (reclassé en *Eubacterium*), *F. ulcerans*, *F. varium*. *F. nucleatum*, *F. necrophorum* et *F. periodonticum* sont les 3 espèces les plus fréquemment isolées dans la cavité buccale de l'homme.

Référence : <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/anaer/frame-anaer-taxonomie.html>

Écologie et Habitat

Les *Fusobacterium* font partie de la flore commensale des cavités naturelles de l'homme : flore bucco-pharyngée, flore de l'appareil respiratoire supérieur, flore intestinale, flore vaginale.

Dans la cavité buccale, chez le sujet sain sur le plan bucco-dentaire, le genre *Fusobacterium* avec principalement *F. nucleatum* est isolé dans la salive, sur les muqueuses linguales et gingivales, dans les plaques supra et sous-gingivales. *F. periodonticum* et *F. necrophorum* sont plus rarement isolés dans la cavité buccale. *F. nucleatum* est aussi présent, associé à d'autres espèces bactériennes, dans les caries, les infections endodontiques, les infections des tissus périapicaux (abcès), les gingivites et les parodontites (dans leurs différentes étapes évolutives).

Isolement

L'isolement du genre *Fusobacterium* s'effectue de la même façon que pour les autres bactéries anaérobies. Le prélèvement doit être conservé dans un milieu de transport spécifique des anaérobies (VGMA III de Moller par exemple) et ensemencé dans les quatre heures qui suivent sa réalisation. Si possible, toute manipulation doit se faire à l'abri maximum d'oxygène. Une station de travail anaérobie permet d'obtenir une atmosphère favorable (80 % N₂, 10 % H₂ et 10 % CO₂).

Les *inoculum*s sont ensemencés sur des milieux de culture non spécifiques (Brucella Agar par exemple) et spécifiques (TGY vert brillant). Les boîtes ensemencées sont maintenues en anaérobiose et mises à l'étuve au moins 72 à 96 heures avant d'être examinées. Les colonies à isoler pour identification et antibiogramme seront déterminées par leurs caractères bactériologiques.

Caractères bactériologiques

L'aspect des colonies du genre *Fusobacterium* est assez dissemblable en fonction des espèces.

Les colonies retrouvées sur les boîtes de culture peuvent être blanches, beiges, orange ou rose.

Les colonies sont non adhérentes à la gélose, plus ou moins muqueuses, circulaires ou légèrement irrégulières, de diamètre allant de 0,5 à 2 millimètres. Elles sont convexes, lisses ou rugueuses, floconneuses, granuleuses ou en empreinte. Les bords peuvent être réguliers ou découpés.

Les aspects à la coloration de Gram sont également très polymorphes en fonction de l'espèce étudiée. La plupart des cellules mesurent 5 à 10 microns de long et ont des extrémités plutôt fines et pointues. On observe des bacilles à Gram négatif, courts ou longs, épais ou fins, effilés ou filamenteux, bien individualisés ou enchevêtrés.

Les *Fusobacterium* semblent ne posséder ni *fimbriae*, ni pili, ni flagelle, mais on trouve parfois une capsule mucopolysaccharidique qui pourrait intervenir dans leur pouvoir pathogène.

Caractères biochimiques

Les *Fusobacterium* sont anaérobies stricts, dépourvus de catalase et de superoxyde dismutase. Le genre *Fusobacterium* est caractérisé par la production d'acide butyrique, à partir d'hydrates de carbone et de peptones. Il ne produit pas d'acides isobutyrique ou isovalérique, contrairement à certains *Bacteroides*. La composition en acides gras a été utilisée comme outil taxonomique. L'acide 3-hydroxyhexadécánate (3-04-16:0) apparaît être caractéristique de l'espèce *F. nucleatum*.

Une identification rapide de *F. nucleatum*, par des tests biochimiques, peut se faire par le système API 20A ou par le système rapID ANA. Étant donné la nature asaccharolytique de *Fusobacterium*, toutes les réactions d'acidification de la galerie API 20A sont négatives, le test pour la production d'indole étant le seul test positif.

L'identification d'espèce repose sur différentes propriétés métaboliques regroupées dans le tableau 1.9. L'identification des sous-espèces de *F. nucleatum* peut être basée sur des techniques comme l'analyse par électrophorèse capillaire, la chromatographie ou l'analyse des séquences transcrites internes des ARN 16S-23S.

Tableau 1.9 : caractéristiques métaboliques des différentes espèces de *Fusobacterium*.

	Indole	Lipase	Bile.gr	Galactose	Thrénine	Hydr.Amidon	H.esculine	ONPG	Phosphatase
<i>F. gonidiaformans</i>	+	-	+	-	+	+	-	-	-
<i>F. mortiferum</i>	-	-	+	-	+	-	+	+	-
<i>F. naviforme</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. necrogenes</i>	-	-	+	- +	+	-	+	-	+
<i>F. necrophorum</i>	+	+	- +	-	+	-	-	-	+
<i>F. nucleatum</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>F. periodonticum</i>	+	-	-	+		-	-	-	
<i>F. russii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>F. varium</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-

Pouvoir pathogène

Dans les pathologies bucco-dentaires, *Fusobacterium*, lorsqu'il est présent, est associé à différentes espèces bactériennes essentiellement anaérobies.

F. necrophorum et *F. nucleatum* sont isolés des flores associées aux infections endodontiques et périapicales, aux cellulites, aux parodontites et aux parodontites péri-implantaires.

F. nucleatum est une des bactéries prédominantes (associées à d'autres espèces) dans la plaque des gingivites des jeunes adultes et des enfants. *F. nucleatum* est constamment présent dans la flore lors de l'initiation des gingivites. *F. nucleatum* serait la principale et la plus fréquente cause d'inflammation gingivale et initierait la maladie parodontale. L'inflammation déclenchée par *F. nucleatum* entraîne une augmentation du transsudat sérique (fluide gingival), ce qui stimule la croissance des autres espèces pathogènes parodontales avec destruction des tissus parodontaux. Les proportions de *F. nucleatum* continuent à se maintenir quand la gingivite progresse et quand la parodontite se développe. *Fusobacterium* est isolé dans les flores des différentes formes de maladies parodontales. La détection de *F. nucleatum* augmente avec le degré d'atteinte parodontale. *F. nucleatum* semble impliqué dans l'évolution vers une flore sous-gingivale plus complexe en permettant l'adhésion de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola*.

Les sous-espèces de *F. nucleatum* le plus fréquemment isolées dans les poches parodontales sont par ordre décroissant : *vincentii*, *nucleatum*, et *polymorphum*.

Les *Fusobacterium* sont impliqués dans les cas de gangrènes orofaciales souvent secondaires à une parodontite nécrotique : l'association de *Porphyromonas asaccharolytica*, *Fusobacterium*, Spirochètes serait à l'origine de ce type d'infection.

Les *Fusobacterium* sont à l'origine de 1 % des bactériémies et de 44 % des bactériémies liées aux anaérobies. Ces infections sont souvent secondaires à une infection primaire oropharyngée compliquée par une thrombose des veines du cou.

Chez la femme enceinte porteuse de maladie parodontale, *F. nucleatum* pourrait jouer un rôle dans l'induction de la prématurité.

Pathogénicité

Métabolisme

Les bactéries du genre *Fusobacterium* utilisent les peptides et les acides aminés produits par hydrolyse des protéines comme source d'énergie et les assimilent mieux que d'autres pathogènes comme *P. gingivalis*. Ces molécules sont transportées à travers la membrane bactérienne par transport actif. La plupart des souches utilisent la lysine, dont la fermentation aboutit à la formation d'acétate et de butyrate. Certaines souches utilisent les acides aminés méthionine, sérine et thréonine. *F. nucleatum* peut survivre en présence de glutamate comme seule source d'énergie. Ces substrats sont retrouvés dans les niches écologiques de la cavité buccale en particulier dans le sillon gingival ce qui peut expliquer la persistance de *F. nucleatum* dans les parodontites.

Le principal produit du métabolisme des peptones et des hydrates de carbone par *F. nucleatum* est l'acide butyrique. *F. nucleatum* utilise relativement peu de glucose par rapport à d'autres espèces bactériennes et, n'utilise pas les sucres comme source principale d'énergie, mais uniquement pour la biosynthèse de molécules intracellulaires. L'absorption du glucose, galactose et fructose se fait grâce à un système de transport qui dépend des acides aminés glutamine, lysine et histidine. Ce système de transport fonctionne uniquement en anaérobiose et aboutit à la formation de polysaccharides intracellulaires. Le catabolisme de ces polysaccharides est sous le contrôle des mêmes acides aminés qui, ajoutés à une suspension cellulaire en anaérobiose, inhibent la dégradation des polymères. Le catabolisme reprend lorsque des enzymes spécifiques participant à la fermentation d'acides aminés sont inactivées en aérobiose. Le catabolisme des polysaccharides aboutit à la formation des acides butyrique, lactique, formique et acétique. *F. nucleatum* a donc la capacité de former des polymères intracellulaires à partir du glucose, du galactose et du fructose, lorsque les acides aminés sont en excès dans le milieu, et de fermenter ces sucres, lorsque les acides aminés sont absents ou rares. Bien que la capacité d'utiliser les polymères intracellulaires contribue sans aucun doute à la survie de *F. nucleatum* dans des conditions de carence nutritionnelle, certaines souches ne semblent pas dépendre de ce phénomène pour survivre dans des conditions défavorables. D'autres facteurs comme la présence d'ions Mg^{++} et une faible vitesse de croissance pourraient également prolonger la survie de ces cellules bactériennes.

Le butyrate est le produit principal de dégradation des peptides et sucres. *F. nucleatum* produit également de l'acétate, du lactate et, dans une moindre mesure, du propionate, du succinate, du formate et des alcools à chaînes de carbones courtes. La production du propionate se fait à partir de la thréonine mais pas du lactate. *F. nucleatum* produit également de l'indole et ne peut pas hydrolyser l'esculine. Les propionates, butyrates et les ions ammonium issus du catabolisme de *F. nucleatum* inhibent la prolifération des fibroblastes gingivaux. Ces composés ne sont pas assez toxiques pour provoquer la mort des cellules, mais l'inhibition de la prolifération des fibroblastes gingivaux compromet la cicatrisation. Butyrates, propionates et ions ammonium sont retrouvés en quantité importante dans les poches parodontales.

Adhésion

Le pouvoir pathogène des *Fusobacterium* est lié en grande partie à leur capacité d'adhésion aux cellules eucaryotes et à leur coagrégation avec d'autres espèces bactériennes dans la flore sous-gingivale. *F. nucleatum* a une activité hémagglutinante sur les globules rouges. *F. nucleatum* adhère aux cellules épithéliales buccales, au collagène, aux fibroblastes gingivaux, et aux polynucléaires. *F. nucleatum* adhère, grâce à ses lipopolysaccharides (LPS), à l'hydroxyapatite. L'adhésion de *F. nucleatum* aux cellules serait facilitée par la fibronectine; et secondairement l'adhésion se ferait grâce aux adhésines représentées par des protéines (lectines) de la membrane externe de *F. nucleatum* (en particulier la protéine *FomA*). *FomA* est une porine non spécifique de 40 kDa, composée d'un trimère polypeptidique dont le gène *fomA* a été cloné. Celles-ci reconnaîtraient spécifiquement des polysaccharides de la salive ou de la surface des cellules supports d'adhésion.

L'adhésion de *F. nucleatum* aux polynucléaires neutrophiles provoque leur agrégation, la dépolarisation de leur membrane, l'augmentation du Ca^{++} libre intracellulaire, la production d'ions superoxyde et le relargage de lysozyme.

Tous ces éléments provoquent une altération des tissus de l'hôte et interviennent dans la pathogénie des maladies parodontales.

Co-agrégation

La co-agrégation est une interaction directe très spécifique entre bactéries. Les interactions sont dues le plus souvent à des protéines de membrane externe qui reconnaissent des hydrates de carbone.

F. nucleatum jouerait un rôle de pont entre les colonisateurs précoces comme les Streptocoques (images en épis) et les colonisateurs tardifs comme *Selenomonas*, *Eubacterium*, *Actinobacillus actinomycetemcometans*, *Capnocytophaga*, *Porphyromonas gingivalis* et *Treponema*, favorisant ainsi le développement des bactéries pathogènes parodontales.

De plus, il y aurait une co-agrégation préférentielle entre *F. nucleatum* et *P. gingivalis* avec échange de métabolites entre les 2 espèces permettant leur survie. Ainsi, une protéine de 42 kDa qui reconnaît un sucre contenant du galactose interviendrait dans la co-agrégation de *F. nucleatum* et *P. gingivalis*. Cette protéine est localisée sur la membrane externe de la bactérie. *F. nucleatum* pourrait jouer un rôle important dans la colonisation de la poche parodontale par *P. gingivalis*. *F. nucleatum* est capable de stocker des glycanes intracellulaires qui sont utilisés comme source d'énergie lorsque les conditions environnementales l'exigent. Il est possible que des petites quantités de glucose s'échappent de la cellule et attirent d'autres espèces bactériennes comme *P. gingivalis*. Bien que *F. nucleatum* utilise principalement les acides aminés comme source d'énergie, sa capacité protéolytique est faible. En présence de *P. gingivalis* la protéolyse augmente de 30 %.

Tous ces éléments expliqueraient le rôle de *F. nucleatum* dans le développement du biofilm sous-gingival et dans l'étiologie des maladies parodontales.

F. nucleatum a une grande affinité pour le galactose. Cette reconnaissance se fait grâce à des lectines. Ainsi, *F. nucleatum* adhère aux résidus galactose terminaux d'une protéine riche en proline (PRP) glycosylée présente dans la salive parotidienne.

Sensibilité aux antibiotiques

Excepté leur résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones, les *Fusobacterium* sont normalement sensibles à la plupart des antibiotiques d'utilisation courante en odonto-stomatologie. Néanmoins, l'observation de plus en plus fréquente de la production de β -lactamase dans ce genre, doit être prise en compte dans les habitudes de prescription.

Les spirochètes (M. Soell)

Considérations taxonomiques

Les *Spirochaetales* sont divisés en deux familles :

- La famille *Spirochaetaceae*, réunissant les espèces des genres *Borrelia*, *Brevinema*, *Critispira*, *Serpulina*, *Spirochaeta* et *Treponema*.
- La famille *Leptospiraceae* réunissant les espèces du genre *Leptospira* et *Leptonema*.

Les spirochètes oraux sont tous du genre *Treponema*. Du fait de la difficulté, voire de l'impossibilité de cultiver ces germes, leur prévalence et leur diversité ont longtemps été sous-estimées avant l'analyse par ARNr 16S. Euzéby (www.bacterio.cict.fr) décrit 23 espèces, dont 9 espèces et 3 sous-espèces buccales isolées à partir de poches parodontales : *Treponema amylovorum*; *Treponema denticola*; *Treponema lecithinolyticum*; *Treponema maltophilum*; *Treponema medium*; *Treponema parvum*; *Treponema pectinovorum*; *Treponema putidum*; *Treponema socranskii* (subsp. *buccale*, subsp. *paredis*, subsp. *socranskii*).

Écologie et habitat

Les spirochètes sont très répandus dans la nature : les eaux douce et salée, les muqueuses humaine et animale. Les spirochètes pathogènes pour l'homme sont du genre *Borrelia*, *Leptospira* et *Treponema*.

Les tréponèmes sont les seuls spirochètes indigènes de la cavité buccale de l'homme et leur niche écologique primaire est la plaque dentaire sous-gingivale. *Treponema denticola* colonise l'espace gingivo-dentaire et le dos de la langue. La bactérie est également capable d'adhérer à l'émail, aux cellules épithéliales et aux fibroblastes.

Les tréponèmes oraux, en particulier *Treponema denticola* et *Treponema socranskii* sont isolés dans des abcès endodontiques.

Treponema denticola a été très récemment identifié dans des plaques d'athérome dans la carotide et l'aorte de deux patients atteints d'athérosclérose. Ce germe parodontopathogène semble présenter une activité métabolique dans la paroi endothéliale de l'artère située sous la plaque d'athérome.

Caractères bactériologiques

Les spirochètes regroupent des bactéries à Gram négatif, mobiles, de forme spiralée ou hélicoïdale de 3 à 250 µm de long. On distingue les petits, moyens et grands spirochètes. Ils sont constitués d'une cellule hélicoïdale souple entourée d'une enveloppe faite de deux feuillets, semblable à la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Cette enveloppe recouvre une couche plus rigide de peptidoglycane accolée par sa face interne à la membrane cytoplasmique. Entre l'enveloppe externe et le feuillet de peptidoglycane qui comporte de l'ornithine se trouve l'organe locomoteur interne composé de fibrilles axiaux (encore appelés flagelles périsplasmiques) dont la structure s'apparente à celle des flagelles bactériens. Ils s'insèrent, par l'une de leurs extrémités, à un corpuscule basal intracytoplasmique situé à un pôle du cylindre protoplasmique. Le nombre de ces fibrilles varie selon les espèces de 2 à 100 par corps bactérien. Les bactéries se déplacent par ondulation du filament axial qui, du

fait de sa position endocellulaire, permet aux spirochètes de rester mobiles même dans un milieu à forte viscosité qui immobilise toutes les autres bactéries flagellées.

Un examen au microscope à fond noir révèle les tréponèmes comme des spirales ondulées et mobiles. L'observation au microscope de ces spirochètes peut également se faire soit après une coloration par imprégnation argentique de Fontana-Tribondeau, soit après une coloration cytologique de May-Grünwald-Giemsa. La méthode de Gram n'est pas performante.

Caractères biochimiques

La culture des spirochètes est difficile : environ 80 % des espèces de spirochètes n'ont pas encore été cultivées. Le diagnostic des spirochètes se fait par observation microscopique ou par analyse de l'ARNr 16S.

T. denticola est la souche la plus étudiée. Sa présence est déterminée par un test BANA, révélant sa capacité d'hydrolyser le benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide.

T. medium, *T. vincentii* et *T. denticola* ne fermentent pas de glucides contrairement à *T. socranskii* capable de fermenter un grand nombre de sucres différents comme le glucose, le fructose, le maltose... Par contre, ces quatre espèces produisent des acides gras. *T. denticola* est un fermenteur des acides aminés.

Pouvoir pathogène

Adhésion

T. denticola se fixe aux fibroblastes gingivaux par l'intermédiaire d'une liaison de type lectine avec une forte affinité pour le galactose et le mannose présents à la surface des fibroblastes.

Pénétration tissulaire

T. denticola est capable d'envahir le tissu épithélial buccal et de migrer vers des sites favorables à sa prolifération grâce à sa mobilité et son chimiotactisme qui fait intervenir deux chémorécepteurs bactériens, DmcA et DmcB. La dentilisine, une chymotrypsine-like protéase ainsi que les vésicules de la membrane externe altèrent les tight junctions permettant l'envahissement des tissus parodontaux par ce germe.

Effets cytotoxiques

T. denticola possède la capacité de léser différents types cellulaires. Les érythrocytes, une fois agglutinés par l'intermédiaire de D-glucosamine, sont lysés après altération de leur membrane cellulaire par une hémolysine de 46 kDa et une chymotrypsine-like protéase de 30,4 kDa. Les tréponèmes provoquent également une diminution de la prolifération des fibroblastes gingivaux voire leur mort, l'inactivation des lymphocytes, la dégranulation ainsi que la combustion oxydative des polynucléaires neutrophiles.

Complexe « chymotrypsin-like protéase »

T. denticola possède un complexe « chymotrypsin-like protéase » de 95 kDa localisé au niveau de la membrane externe. Ce complexe enzymatique intervient dans l'adhérence de la bactérie au tissu épithélial, mais présente également des propriétés cytotoxiques. En effet, elle induit la dégradation de la fibronectine péricellulaire des cellules épithéliales et des fibroblastes. L'absence d'adhérence entre la fibronectine et les fibroblastes induit l'apoptose cellulaire. Ce complexe enzymatique hydro-

lyse également le fibrinogène, l' α -antitrypsine, la laminine, la transferrine, les immunoglobulines G et A.

Enzymes bactériennes

Les tréponèmes oraux produisent des enzymes protéolytiques qui dégradent le tissu parodontal. On note des hémolysines, des estérases, des collagénases, des iminopeptidases, des phospholipases C, des hyaluronidases, des trypsine-like protéases, des chymotrypsine-like protéases et des chondroïtine sulfatases.

Physiopathologie

La porte d'entrée des spirochètes est cutanée ou muqueuse. Il se forme une lésion cutanée après la pénétration du germe. Les patients infectés présentent une spirochètémie dès les premiers stades de la maladie avec une dissémination bactérienne dans les tissus et les fluides de l'organisme. Les pathologies induites par les spirochètes évoluent de manière cyclique, des phases d'activité sont interrompues par des périodes de latence.

Les spirochètes oraux induisent des parodontopathies (gingivite, parodontite), des abcès endodontiques et des péricoronarites.

Épidémiologie

Lorsque l'hygiène bucco-dentaire des patients est satisfaisante, les spirochètes sont peu nombreux en bouche, mais leur nombre augmente simultanément à la dégradation de l'hygiène bucco-dentaire. Les spirochètes constituent moins de 1 % de la flore d'une cavité buccale saine, alors qu'ils peuvent représenter jusqu'à 20 % de la flore d'une gingivite, 30 % de la flore d'une parodontite et 50 % de la flore d'une gingivite ulcéro-nécrotique.

L'association *T. socranskii*, *T. denticola* et *Porphyromonas gingivalis* est fréquemment détectée chez des patients atteints de parodontite sévère et semble être étroitement corrélée avec la sévérité des destructions tissulaires.

Les tréponèmes oraux ont été détectés dans 89 % des abcès endodontiques. Les espèces le plus fréquemment isolées sont *T. denticola* (79 % des cas), *T. socranskii* (26 % des cas), *T. pectinovorum* (21 % des cas), *T. amylovorum* (16 % des cas) et *T. medium* (5 % des cas).

Sensibilité aux antibiotiques

Les spirochètes sont sensibles à la pénicilline (pénicilline G, amoxicilline), aux tétracyclines et aux macrolides (azithromycine). Les spirochètes sont résistants à la rifampicine.

Tableaux récapitulatifs des principaux genres bactériens de la flore buccale (O. Barsotti)

Principaux cocci à Gram positif aérobies et anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Abiotrophia</i> <i>A. defectiva</i> (ex- <i>Streptococcus</i>)	Coques polymorphes (ovoïdes, coccobacillaires)	α	-	Hôtes normaux de la cavité buccale (plaque jeune), de l'intestin et de l'appareil urogénital Isolés d'hémocultures lors de bactériémies, de septicémies et d'endocardites
<i>Enterococcus</i> <i>E. faecalis</i> ^{vm}	0,6 – 2,5 μ Ovoïdes ; En paires, en courtes chaînes	γ - β	-	Infections endodontiques, échec du traitement endodontique
<i>Gemella</i> <i>G. morbillorum</i> <i>G. bergeri</i>	0,5 – 1,4 μ Ovoïdes ; En paires, isolés, en courtes chaînes, en amas	α ou γ α ou γ	V -	Isolées de caries radiculaires, d'infections endodontiques avec lésions périapicales, d'abcès dentaires, de parodontites sévères et d'hémocultures lors d'endocardites
<i>Granulicatella</i> <i>G. adiacens</i> (ex- <i>Abiotrophia</i> , ex- <i>Streptococcus</i>) <i>G. elegans</i> (ex- <i>Abiotrophia</i>)	Coques polymorphes (coccoides ou coccobacillaires) En paires, en courtes chaînes	α α	-	Hôtes normaux de la cavité buccale (plaque jeune), de l'intestin et de l'appareil urogénital Isolés d'hémocultures lors de bactériémies, de septicémies et d'endocardites sévères
<i>Staphylococcus</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	0,5 – 1,5 μ Coques ; En grappes, en paires, en tétrades	α - β - γ α - γ	+ +	Présents sur la peau, au niveau du nez, des dents (fissures), sur la langue Isolés de : nécroses pulpaires, ostéites, alvéolites, ré-infections endodontiques, parodontites agressives généralisées, parodontites péri-implantaires, maladies parodontales chez les sujets immunodéprimés (leucémiques, neutropéniques)
<i>Streptococcus</i> streptocoques oraux <i>S. mutans</i> <i>S. sobrinus</i> <i>S. devriesei</i>	0,5 – 2 μ	α - γ γ - α nd	-	Présents dans la plaque supra-gingivale, les sillons gingivaux, la salive et sur les tissus mous
<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i>	Coques ; En paires, en chaînes	α - β - γ α - β - γ α - β - γ		Isolés de : caries, nécroses pulpaires, ré-infections endodontiques, abcès périapicaux, gingivites chroniques, parodontites péri-implantaires, endocardites
<i>S. australis</i> <i>S. cristatus</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. infantis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. oligofermentans</i> <i>S. oralis</i>		α α - γ α - γ α α - γ α α - γ		

H = hémolyse ; C = catalase ; ^{vm} Parfois mobile ; V = variable ; nd = non déterminé

Principaux cocci à Gram positif aérobies et anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale (suite)

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>S. parvasanguinis</i>		α - γ		
<i>S. peroris</i>		α		
<i>S. sanguinis</i>		α - γ		
<i>S. pneumoniae</i>		α		
<i>S. salivarius</i>		γ - α - β		
<i>S. vestibularis</i>		γ - α		

H = hémolyse ; C = catalase

Principaux cocci à Gram négatif aérobies et anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Moraxella</i> subgen. <i>Branhamella</i> <i>M. catarrhalis</i> ^{∇m}	1,5 – 2,5 μ Coques en paires, en courtes chaînes, en grappes	γ	+	Présentes dans la cavité buccale
<i>Neisseria</i> <i>N. sicca</i>	0,6 – 1 μ Coques en paires, en tétrades	γ - α	+	Présentes sur les lèvres, la langue, les plaques supra- et sous-gingivales Isolées de nécroses pulpaire

H = hémolyse ; C = catalase ; ^{∇m} Parfois mobile

Principaux bacilles à Gram positif anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Actinomyces</i> <i>A. graevenitzii</i> <i>A. naeslundii</i> genosp. 1 <i>A. naeslundii</i> genosp. 2 <i>A. radicidentis</i> <i>A. viscosus</i>	2-50 μ Coccobacilles ou bacilles droits parfois légèrement incurvés, +/- longs, avec des ramifications, et parfois des renflements aux extrémités Souvent en V, en L, en Y ou en palissade	nd α α - γ nd α	- - +/- + +	Présents dans les sillons et les plaques dentaires supra et sous-gingivales, la salive et sur les tissus mous Isolés de : caries, nécroses pulpaire, infections et ré-infections endodontiques et périapicales, cellulites, échec de traitement endodontique, gingivites chroniques, abcès parodontal et parfois d'hémocultures lors d'endocardites
<i>Corynebacterium</i> <i>C. matruchotii</i>	1,5-8 μ Polymorphes (filaments surtout mais aussi en forme de manche de fouet « whiphandle »)	γ	+	Présentes dans la cavité buccale Isolées de parodontites

H = hémolyse ; C = catalase ; nd = non déterminé

Principaux bacilles à Gram positif anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale (suite)

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Lactobacillus</i>	1-100 µ	γ	-	Présents dans la plaque dentaire supra-gingivale, dans la salive et sur les tissus mous
<i>L. acidophilus</i>	Bacilles +/- fins, droits, +/- longs et parfois coccoïdes (coccobacilles)			
<i>L. casei</i>				
<i>L. fermentum</i>	En paires, isolés, en courtes chaînes			Isolés de caries, de nécroses pulpaire
<i>L. oris</i>				
<i>L. plantarum</i>				
<i>L. rhamnosus</i>				
<i>L. salivarius</i>				
<i>L. zeae</i>				
<i>Rothia</i>	1-5 µ			Présentes dans la cavité buccale et le pharynx
<i>R. dentocariosa</i> ¹ I et II	Polymorphes (parfois coccobacilles) ; En paires	γ	+	
<i>R. mucilaginosa</i> ²		γ	+/-	Isolées de caries, d'abcès du cerveau, de septicémies, d'endocardites

H = hémolyse ; C = catalase ; ¹*Rothia dentocariosa* genomovars I et II ; ²*Rothia mucilaginosa* (ex-*Stomatococcus mucilaginosis*)

Principaux bacilles à Gram négatif anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Acinetobacter</i> ^m	1,5-2,5 µ			Présents dans les sillons gingivaux sains
<i>A. lwoffii</i>	Bacilles courts ; En paires, en chaînes	γ	+	Isolés de parodontites agressives généralisées et de parodontites associées aux leucémies/neutropénies et au HIV
<i>Actinobacillus</i> *	0,4-1 µ			Présents sur les lèvres, le palais, dans les sillons et les plaques dentaires supra et sous-gingivales
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Coccobacilles ; Isolés, en paires	γ	+	Isolés de : parodontites péri-implantaires, parodontites agressives localisées, parodontites associées aux leucémies/neutropénies, au HIV, au Syndrome de Papillon-Lefèvre, au Syndrome de Down et au diabète
<i>Campylobacter</i> ^m	0,5-5 µ			Présents dans les sillons et les plaques dentaires supra et sous-gingivales
<i>C. consisus</i>	Bacilles courts (droits ou en virgule), ou sous forme de filaments	γ	-	
<i>C. curvus</i>		α	-	Isolés de : nécroses pulpaire, lésions endo-parodontales, desmodontites, parodontites péri-implantaires, parodontites chroniques actives,
<i>C. gracilis</i>		γ	-	parodontites agressives localisées, parodontites associées au HIV, au diabète et à la maladie de Crohn
<i>C. rectus</i>		α	-	
<i>C. showae</i>		α	+	
<i>C. sputorum</i>		γ	+/-	
<i>Capnocytophaga</i> ^m	2,5-6 µ			Présents dans les sillons et les plaques dentaires supra et sous-gingivales
<i>C. gingivalis</i>	Fusiformes ; En virgule	γ	-	
<i>C. granulosa</i>		β	+	
<i>C. haemolytica</i>		β	+	Isolés de : nécroses pulpaire, abcès périapicaux, infections endodontiques, parodontites péri-implantaires, parodontites agressives localisées, parodontites associées au diabète
<i>C. ochracea</i>		γ	-	
<i>C. sputigena</i> (en S)		γ	-	
<i>Eikenella</i>	1,5-4 µ	γ	+/-	Présentes dans les sillons gingivaux sains
<i>E. corrodens</i> sm	Bacilles courts ou sous forme de filaments			Isolées de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives et de parodontites associées au syndrome de Papillon-Lefèvre et au diabète

H = hémolyse ; C = catalase * L'inclusion de *Aa* dans le genre *Haemophilus* n'a pas reçu l'approbation du comité des Pasteurellaceae ; ^mBactéries mobiles ; smmobilité par saccades.

Principaux bacilles à Gram négatif anaérobies facultatifs retrouvés dans la cavité buccale (suite)

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Haemophilus</i> <i>H. aphrophilus</i> <i>H. influenzae</i> <i>H. parahaemolyticus</i> <i>H. parainfluenzae</i> <i>H. paraphrophilus</i> <i>H. segnis</i>	1 μ Coccobacilles ou bacilles sous forme de filaments	γ γ β γ γ γ	- + +/- +/- - +/-	Présents dans les sillons gingivaux sains Isolés de parodontites associées au syndrome de Papillon-Lefèvre
<i>Klebsiella</i> <i>K. pneumoniae</i>	0,6-6 μ Bacilles courts En paires, isolés, en chaînes	γ	+	Isolées de : parodontites péri-implantaires, parodontites agressives généralisées, parodontites associées aux leucémies/neutropénies et au HIV
<i>Pseudomonas</i> sm <i>P. aeruginosa</i>	1,5-5 μ Courts, droits ou courbés ; En paires, en chaînes	γ	+	Isolés de : ré-infections endodontiques, parodontites péri-implantaires, parodontites agressives généralisées, parodontites associées aux leucémies/neutropénies et au HIV

H = hémolyse ; C = catalase ; smmobilité par saccades

Principaux cocci à Gram positif anaérobies stricts retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Anaerococcus</i> <i>A. prevotii</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5 – 1,2 μ En chaînes, en tétrades, en grappes	$\gamma - \beta$	-/+	Isolés de parodontites péri-implantaires
<i>Finegoldia</i> <i>F. magna</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5 – 1,2 μ Gros cocci Isolés, en tétrades, en grappes	γ	+/-	Isolées de caries
<i>Micromonas</i> <i>M. micros</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5 – 1,2 μ En paires, en chaînes	$\gamma - \beta$	-	Isolés de : caries, infections et ré-infections endodontiques, abcès périapicaux, parodontites péri-implantaires, parodontites chroniques actives, abcès parodontaux, parodontites associées au HIV et à la maladie de Crohn
<i>Peptococcus</i> <i>P. niger</i>	0,3 – 1,2 μ En paires, en tétrades, en grappes, en courtes chaînes	γ	+/-	Isolés de lésions endo-parodontales et de desmodontites
<i>Peptoniphilus</i> <i>P. asaccharolyticus</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5 – 1,2 μ En paires, en grappes, en courtes chaînes	γ	-	Isolés de caries
<i>Peptostreptococcus</i> <i>P. anaerobius</i>	0,5 – 1,2 μ En paires, en courtes chaînes	γ	-	Présents sur la langue, dans les sillons gingivaux sains Isolés de : caries, nécroses pulpaire, infections endodontiques, desmodontites, abcès parodontaux

H = hémolyse ; C = catalase

Principaux cocci à Gram négatif anaérobies stricts de la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Anaeroglobus</i> * <i>A. geminatus</i>	0,5 – 1,1 μ Ovoïdes ; En paires	γ	-	Présents dans la cavité buccale et le tractus gastro-intestinal
<i>Veillonella</i> <i>V. atypica</i> <i>V. dispar</i> <i>V. parvula</i>	0,3 – 0,5 μ Petits cocci ; En paires, en petites chaînes, souvent en grappes	γ γ γ	- - +	Présentes sur les tissus mous, dans les sillons, les plaques dentaires supra et sous-gingivales, la salive
		γ	-	Isolées de : caries, nécroses pulpaire, infections endodontiques, abcès parodontaux

H : hémolyse ; C : catalase ; * Famille des *Veillonellaceae*

Principaux bacilles à Gram positif anaérobies stricts retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Actinomyces</i> <i>A. georgiae</i> <i>A. gerencseriae</i> <i>A. israelii</i> <i>A. meyeri</i> <i>A. odontolyticus</i> I et II <i>A. oricola</i>	2-50 μ Bacilles courts, en filaments, ou de forme coccoïde (coccobacilles) En V, en L, en Y, ramifié, avec parfois des renflements aux extrémités	α - γ γ α - γ α - γ γ	-	Présents sur les tissus mous, dans les sillons et les plaques dentaires supra et sous-gingivales Isolés de : caries, nécroses pulpaire, infections et ré-infections endodontiques, abcès périapicaux, granulomes, cellulites, gingivites, parodontites péri-implantaires et parfois d'hémocultures lors d'endocardites
<i>Atopobium</i> <i>A. minutum</i> (ex- <i>Lactobacillus</i>) <i>A. rimae</i> (ex- <i>Lactobacillus</i>)	1-10 μ Bacilles courts, parfois coccoïdes (coccobacilles) ; En paires, courtes chaînes	γ	-	Retrouvés au niveau des gencives Isolés d'abcès dentaires
<i>Bifidobacterium</i> <i>B. dentium</i>	1,5-8 μ Bacilles moyens ; Isolés, en chaînes	γ	-	Isolés de caries et d'infections endodontiques
<i>Bulleidia</i> <i>B. extructa</i>	0,5-0,8 μ /2 μ Bacilles courts ; Isolés, en paires	γ	-	Retrouvées dans la cavité buccale Isolées de poches parodontales et d'abcès dentaires
<i>Clostridium</i> ^{s, m} <i>C. butyricum</i> <i>C. hastiforme</i> <i>C. malenominatum</i> <i>C. ramosum</i> <i>C. sporogenes</i> <i>C. subterminale</i>	1,5-20 μ Bacilles moyens ; En paires, isolés, en courtes chaînes	α - β β α - β β β β	-	Présents dans les sillons gingivaux sains Isolés de caries, de parodontites associées au HIV, de gingivites associées au syndrome de Down
<i>Cryptobacterium</i> <i>C. curtum</i>	0,5-1 μ Coccobacilles Isolés, en grappes	γ	-	Retrouvés dans la cavité buccale humaine

H = hémolyse ; C = catalase ; ^{s, m} Bactéries sporulées, mobiles.

Principaux bacilles à Gram positif anaérobies stricts retrouvés dans la cavité buccale (suite)

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Eggerthella</i> <i>E. lenta</i> (ex- <i>Eubacterium</i>)	Bacilles courts Isolés, en paires, en chaînes	γ	-	Surtout retrouvées dans les fèces, rarement isolées dans la cavité buccale
<i>Eubacterium</i> <i>E. brachy</i> <i>E. infirmum</i> <i>E. minutum</i> <i>E. nodatum</i> <i>E. saburreum</i> <i>E. sapheum</i> ^{mt} <i>E. sulci</i> (ex- <i>Fusobacterium</i>) <i>E. yurii</i> tm	0,3-10 μ Bacilles courts ou en filaments ou parfois de forme coccoïde (coccobacilles) Isolés, en chaînes	γ	-	Présents dans les plaques dentaires supra et sous-gingivales Isolés de caries, de nécroses pulpaire, d'infections et ré-infections endodontiques, de parodontites péri-implantaires, d'abcès parodontaux, de parodontites associées au HIV ou à la maladie de Crohn
<i>Mogibacterium</i> <i>M. diversum</i> <i>M. neglectum</i> <i>M. pumilum</i> <i>M. timidum</i> (ex- <i>Eubacterium</i>) <i>M. vescum</i>	0,2-0,3 μ /1-5 μ Bacilles courts Isolés, en courtes chaînes, en grappes	γ	-	Retrouvés sur la langue Isolés de pulpes dentaires nécrosées et de parodontites
<i>Olsenella</i> <i>O. profusa</i> (ex- <i>Eubacterium</i>) <i>O. uli</i> (ex- <i>Lactobacillus</i>)	1-10 μ Bacilles courts ; En paires, en courtes chaînes, isolés	γ	-	Isolées de plaques sous-gingivales de patients atteints de parodontites
<i>Parascardovia</i> <i>P. denticolens</i> (ex- <i>Bifidobacterium</i>)	1-6 μ Petits bacilles fins de forme variable	γ	-	Isolées de caries dentaires
<i>Propionibacterium</i> <i>P. acnes</i> <i>P. avidum</i> <i>P. freudenreichii</i> <i>P. granulosum</i> <i>P. jensenii</i> <i>P. propionicus</i>	1-5 μ Coccobacilles Bacilles courts en V, en L Coccobacilles Bacilles courts en V, en L " "	γ - β β γ γ γ γ - β	+/- + + + +/- -	Présents dans la plaque supra-gingivale Isolés de caries, d'infections et ré-infections endodontiques, d'abcès périapicaux, de parodontites péri-implantaires
<i>Pseudoramibacter</i> <i>P. alactolyticus</i> (ex- <i>Eubacterium</i>)	Grands bacilles ; En paires, chaînes, en V ou L	γ	-	Isolés de caries dentaires
<i>Scardovia</i> <i>S. inopinata</i> (ex- <i>Bifidobacterium</i>)	1-6 μ Bacilles courts ou de forme coccoïde	γ	-	Isolées de caries dentaires
<i>Shuttleworthia</i> <i>S. satelles</i>	0,4-0,6 μ /1-2,5 μ Petits bacilles légèrement incurvés ; Isolés, en paires, en courtes chaînes		-	Présentes dans la cavité buccale humaine Isolées de plaques sous-gingivales et de poche parodontales de patients atteints de parodontites
<i>Slackia</i> <i>S. exigua</i> (ex- <i>Eubacterium</i>)	0,3-10 μ Coccobacilles ; Isolés	γ	-	Surtout retrouvées dans les fèces, rarement isolées dans la cavité buccale Isolées d'infections endodontiques, d'abcès buccaux, de parodontites

H = hémolyse ; C = catalase

Principaux bacilles à Gram négatif anaérobies stricts retrouvés dans la cavité buccale

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Bacteroides</i> <i>B. heparinolytica</i> (ex-Prevotella) <i>B. zoogloeoformans</i> (ex-Prevotella)	1,5-6 μ Bacilles courts, filaments ; Isolés	γ α	- - -	Présents dans les sillons gingivaux sains Isolés d'abcès parodontaux, de parodontites chroniques et agressives
<i>Centipeda</i> <i>C. periodontii</i> ^m	4-17 μ Grands bacilles, parfois en S	γ	-	Isolées de parodontites
<i>Desulfomicrobium</i> <i>D. orale</i> ^{vm}	0,6-0,8 μ /1,8-3 μ , Bacilles fins ; Isolés	γ	-	Habitat = cavité buccale Isolés de plaques sous-gingivales de patients atteints de parodontites
<i>Dialister</i> <i>D. pneumosintes</i> (ex-Bacteroides)	1-6 μ Coccobacilles ; Isolés, en paires, en courtes chaînes	γ	-	Peu présent dans une cavité buccale saine Isolés d'infections endodontiques, de lésions périapicales, de parodontites +/- sévères, d'abcès du cerveau, du tractus respiratoire
<i>Filifactor</i> <i>F. alocis</i> (ex-Fusobacterium)	Moyens (1,5-7 μ), isolés, paires	γ	-	Isolés d'infections endodontiques, de lésions périapicales, de parodontites
<i>Fusobacterium</i> <i>F. necrophorum</i> subsp. <i>funduliforme</i> <i>necrophorum</i> <i>F. nucleatum</i> subsp. <i>fusiforme</i> <i>nucleatum</i> <i>polymorphum</i> <i>vincentii</i> <i>F. periodonticum</i>	3-100 μ (3-10 μ en moyenne) Filaments aux extrémités arrondies ou effilées, avec parfois présence de granules ; Isolés, en chaînes,	α - β β - γ γ	- - - - - - - -	Présents dans les sillons et les plaques supra et sous-gingivales sur la langue Isolés de : nécroses pulpaire, infections endodontiques, abcès périapicaux, lésions endo-parodontales, parodontites péri-implantaires, gingivites chroniques, parodontites chroniques actives, parodontites agressives localisées, parodontites nécrotiques, abcès parodontaux, parodontites associées aux leucémies/neutropénies, au HIV, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au diabète, à la maladie de Crohn
<i>Leptotrichia</i> <i>L. buccalis</i> <i>L. hofstadii</i> <i>L. shahii</i> <i>L. trevisanii</i> <i>L. wadei</i>	5-15 μ Filaments avec granules Gram-positifs, fusiformes, parfois légèrement incurvés ; En paires, en chaînes	γ β γ nd β	- + + + +	Présentes dans la salive, les plaques supra et sous-gingivales de sujets sains ou atteints de gingivites <i>L. buccalis</i> = occasionnellement isolées d'hémocultures de patients immunodéprimés (neutropénie) ou atteints d'endocardites
<i>Porphyromonas</i> (pigmentés) <i>P. asacharolytica</i> <i>P. endodontalis</i> <i>P. gingivalis</i> (non pigmentés) <i>P. catoniae</i>	1-3 μ Coccobacilles	nd γ β - γ γ - β	- - - - - -	Présents dans les sillons et la plaque sous-gingivale, sur les lèvres et la langue Isolés de : nécroses pulpaire, infections endodontiques, desmodontites, abcès périapicaux, lésions endo-parodontales, parodontites péri-implantaires, gingivites chroniques, parodontites chroniques actives, parodontites agressives, parodontites nécrotiques, abcès parodontaux, parodontites associées aux leucémies/neutropénies, au HIV, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au syndrome de Down, au diabète, à la maladie de Crohn

H = hémolyse ; C = catalase ; ^mBactéries mobiles ; smmobilité par saccades ; ^{vm}parfois mobiles ; nd = non déterminé

Principaux bacilles à Gram négatif anaérobies stricts retrouvés dans la cavité buccale (*suite*)

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Prevotella</i> (pigmentés)	1-6 μ		-	Présentes dans les sillons et la plaque sous-gingivale, sur les lèvres et la langue
<i>P. denticola</i>		γ		
<i>P. intermedia</i>		α - β		
<i>P. loeschii</i>		γ - β		
<i>P. melaninogenica</i>	Bacilles polymorphes	α - β		Isolées de : nécroses pulpaire, infections endodontiques, abcès périapicaux, lésions endo-parodontales, ostéites, parodontites péri-implantaires, gingivites chroniques, parodontites chroniques actives, parodontites agressives, parodontites nécrotiques, abcès parodontaux, parodontites associées aux leucémies/neutropénies, au VIH, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au syndrome de Down, au diabète, à la maladie de Crohn
<i>P. nigrescens</i>	(courts, en filaments,	β		
<i>P. pallens</i>	ou coccoïdes de type	γ		
<i>P. shahii</i>	coccobacilles)	nd		
<i>P. tannerae</i>	Isolés, en paires, en	β		
(non pigmentés)	chaînes			
<i>P. baroniae</i>		nd		
<i>P. buccae</i>		γ		
<i>P. buccalis</i>		γ - β		
<i>P. dentalis</i>		α		
<i>P. enoeca</i>		γ		
<i>P. marshii</i>		nd		
<i>P. multiformis</i>		nd		
<i>P. oralis</i>		γ - β		
<i>P. oris</i>		γ		
<i>P. oulorum</i>		β		
<i>P. salivae</i>		nd		
<i>P. veroralis</i>		β		
<i>Selenomonas</i> ^m	3-6 μ	γ	-	Présents dans les sillons et la plaque sous-gingivale
<i>S. artemidis</i>	Incurvés ou en hélice ;			Isolés d'abcès périapicaux et de parodontites (chroniques actives, agressives généralisées, associées à la maladie de Crohn)
<i>S. diana</i>	Isolés, en paires, en courtes			
<i>S. flueggei</i>	chaînes			
<i>S. infelix</i>				
<i>S. noxia</i>				
<i>S. sputigena</i>				
<i>Tannerella</i>	3-6 μ	γ	-	Présentes dans les sillons et la plaque sous-gingivale
<i>T. forsythia</i> (ex- <i>Bacteroides</i>)	Fusifformes			Isolées de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives généralisées, d'abcès parodontaux

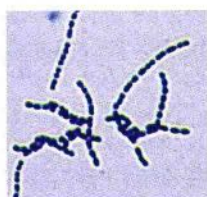
H = hémolyse ; C = catalase ; ^mBactéries mobiles ; nd = non déterminé

Principaux spirochètes et mycoplasmes retrouvés dans la cavité buccale

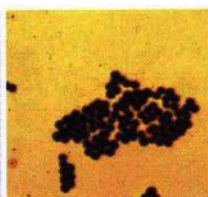
Mycoplasmes 1-30 μ				Spirochètes ^m 5-250 μ			
Anaérobies facultatifs				Anaérobies stricts			
Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C
<i>Mycoplasma</i>	Polymorphes			<i>Treponema^m</i>	Bacilles hélicoïdaux		
<i>M. buccale</i>	2-5 μ	γ	-	<i>T. amylovorum</i>		γ	-
<i>M. faucium</i>	"	nd	nd	<i>T. denticola*</i>		γ	-
<i>M. hominis</i>	"	γ	-	<i>T. lectithinolyticum</i>		β ou γ	-
<i>M. orale</i>	8-10 μ	γ	-	<i>T. maltophilum</i>		γ	-
<i>M. pneumoniae</i>	2-5 μ	γ	-	<i>T. medium</i>		γ	-
<i>M. salivarium</i>	1-30 μ	γ	-	<i>T. parvum</i>		γ	-
				<i>T. pectinovorum</i>		γ	-
				<i>T. putidum</i>		γ	-
				<i>T. socranskii*</i> subsp. buccale		γ	-
				<i>paredis</i>			
				<i>socranskii</i>			
				<i>T. vincentii**</i>		γ	-

* Espèces les plus fréquemment isolées chez l'homme ; ** Absent des listes approuvées des noms bactériens de l'IJSEM bien qu'il ait été effectivement publié ; nd = non déterminé ; ^mBactéries mobiles ; H = hémolyse ; C = catalase

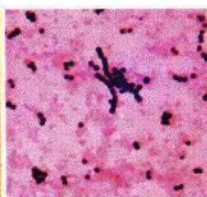
Coloration de Gram des principaux genres bactériens de la flore buccale



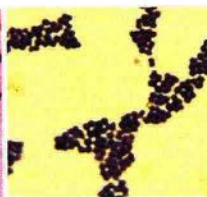
Streptococcus



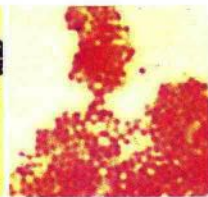
Staphylococcus



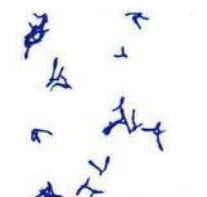
Micromonas



Enterococcus



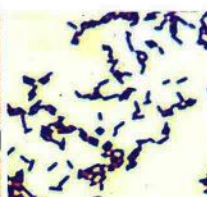
Veillonella



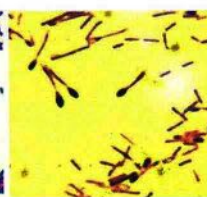
Actinomyces



Lactobacillus



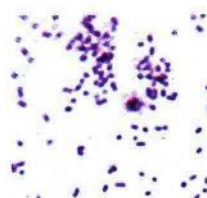
Eubacterium



Clostridium



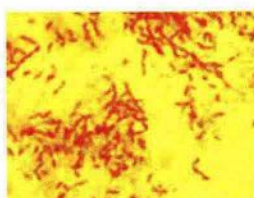
Propionibacterium



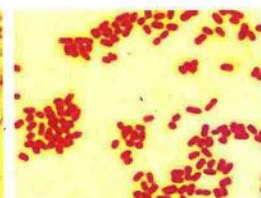
Actinobacillus



Capnocytophaga



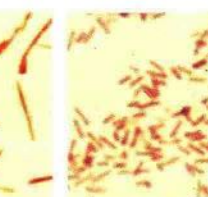
Campylobacter



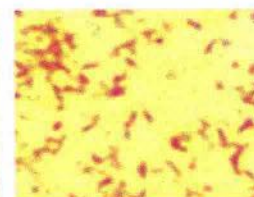
Porphyromonas



Fusobacterium



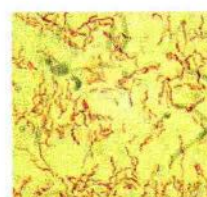
Prevotella



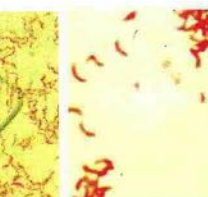
Eikenella



Tannerella



Treponema



Selenomonas

Références bibliographiques

- Antony SJ : Lactobacilemia : an emerging cause of infection in both the immunocompromised and the immunocompetent host. *J Natl Med Assoc* 2000; 92 (2) : 83-6.
- Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H : *Streptococcus Enterococcus*. p. 32-59. In : *Bactériologie clinique*. 3^e éd. Ellipses Edition Marketing SA, 2000.
- Garrity GM, Holt JG. : *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer-Verlag, New York, 2001. vol.1 : 140-146.
- Benett KW, Elley A : *Fusobacteria* : new taxonomy and related diseases. *J Med Microbiol* 1993; 39 : 246-254.
- Bolstad AI, Jensen HB, Bakken V : Taxonomy, Biology, and Periodontal Aspect of *Fusobacterium nucleatum*. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9:55-71.
- Claridge JE and Zhang Q : Genotypic diversity of clinical *Actinomyces* species : phenotype, source and disease correlation among genospecies. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40 (9) : 3442-3448.
- Chan ECS, McLaughlin R : Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15 :1-9.
- Conrads G, Claros MC, Citron DM, Tuprel KL, Merriam V, Golstein EJ : 16S-23S r DNA internal transcribed spacer sequences for analysis of the phylogenetic relationships among species of the genus *Fusobacterium*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52 : 493-499.
- Dewhist FE, Tamer MA, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Boches SK, Galvin JL, Paster BJ. : The diversity of periodontal spirochetes by 16S rRNA analysis. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15 : 196-202.
- Faibis F, Fiacre A et Demachy MC : Actualité sur la sensibilité des streptocoques aux antibiotiques (en dehors des entérocoques et de *Streptococcus pneumoniae*). *Ann Biol Clin* 2003; 61 : 49-59.
- Felten A, Barreau C, Bizet C, Lagrange PH, Philippon A. : *Lactobacillus* Species identification, H₂O₂ production, and antibiotic resistance and correlation with human clinical status. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (3) : 729-33.
- Flandrois JP : *Bactériologie Médicale*. Éditions Presse Universitaire de Lyon, 1997.
- Freney J, Renaud F, Hansen W et Bollet C : *Précis de Bactériologie Clinique*. Éditions Eska, 2000.
- Kolenbrander PE, Anderson RN, Clemans DC, Whittaker CI, Klier CM : *Potential role of functionally similar coaggregation mediations in bacterial succession*. In : Newman HS, Wilson M (eds) : *Dental plaque revisited. Oral biofilms in health and diseases*. Cardiff School. Biosciences/Cardiff University, 1999 : 171-186.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC and Winn WC Jr : *Color atlas and text-book of diagnostic microbiology*. Fifth edition. Lippincott Philadelphia, New York, 1997.
- Kuhnert P, Frey J, Lang NP, Mayfield L : Phylogenetic analysis of *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* clinical strains reveals a clear species clustering. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2002; 52 : 1391-1395.
- Leadbetter ER, Holt SC, Socransky SS : *Capnocytophaga* : a new genus of gram-negative gliding bacteria. I. General characteristics, taxonomic consideration and significance. *Archives of Microbiology* 1979; 122 : 9-16.
- Lux R, Miller JN, Park NH, Shi W : Motility and chemotaxis tissue penetration of oral epithelial cell layers by *Treponema denticola*. *Infect Immun* 2001; 69 : 6276-6283.
- Mitchell TJ : The pathogenesis of streptococcal infections : from tooth decay to meningitis. *Nat Rev Microbiol* 2003; 1 : 219-230.

Prescott-Harley-Klein : *Microbiologie*. Éditions DeBoeck Université, 1995.

Santala AM, Sarkonen N, Hall V, Carlson P, Jousimies-Somer H, Könönen E : Evaluation of four commercial test systems of identification of *Actinomyces* and some closely related species. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42 (1) : 418-420.

Schaal KP : *Actinomycoses, actinobacillosis and related diseases*, p. 777-798. In Haussler WJ and Sussman M (ed.), *Topley and Wilson's microbiology and microbial infections*. 9th ed., vol. 3. Edward Arnold, London, England, 1997.

Shah HN and Collins MD : Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol* 1998; 38 : 128-131.

Smith H : *Gram negative bacteria : the determinants of pathogenicity*. In : *Gram negative bacterial infections and mode of endotoxin actions. Pathophysiological, immunological and clinical aspects*. Eds. Urbanschek B, Urbanschek R & Neter E pp.8-15. Springer-Verlag, New York, 1975.

van Strijp AJP, van Steenberghe TJM, ten Cate JM : Bacterial colonization of mineralized and completely demineralized dentine in situ. *Caries Res* 1997; 31 : 349-55.

Les virus (H. Chardin)

Introduction

Les virus sont des particules élémentaires ne pouvant se reproduire par elles-mêmes, ce sont des parasites cellulaires obligatoires. Les particules élémentaires virales sont constituées par un acide nucléique unique (ADN ou ARN) et une coque protéique ou capside, auxquels peuvent s'ajouter une enveloppe externe et d'autres protéines.

Les virus peuvent infecter des cellules procaryotes ou eucaryotes. Les virus infectant des cellules procaryotes sont appelés bactériophages, ils ne seront pas étudiés dans cet ouvrage qui ne traitera que de quelques virus infectant l'Homme.

Structure des particules virales

Les particules virales sont de taille très variable allant de 10 nm de diamètre pour les plus petits à 300-400 nm pour les plus grands. Chaque particule est constituée par une capside protéique contenant l'acide nucléique (nucléocapside) à laquelle peuvent s'ajouter des enzymes et une enveloppe externe.

La nucléocapside

C'est l'élément de base, elle est constituée par une capside et un acide nucléique.

La capside

Il existe plusieurs types de capsides classés selon leur symétrie :

- Hélicoïdale : forme un cylindre rigide ou flexible. Les capsides hélicoïdales sont formées par la répétition d'une unité protéique de base ou protomère.
- Icosaédrique : de forme sphérique lorsqu'elles sont observées au microscope électronique à faible grossissement. Les capsides icosaédriques sont d'une composition plus complexe que les capsides hélicoïdales, elles sont constituées de capsomères composés eux-mêmes de protomères. On distingue deux types de capsomères : les pentons (pentamères) localisés aux sommets de l'icosaèdre et les hexons (hexamères) occupant les faces. Les protomères qui forment les pentons et les hexons peuvent être identiques.
- Complexe : elles ne correspondent pas à une symétrie bien déterminée ou possèdent des accessoires.

L'acide nucléique

Chez les virus animaux, l'acide nucléique peut être un ARN ou un ADN simple brin ou double brin. Lorsqu'il s'agit d'un ARN simple brin, il peut être de polarité positive ou négative.

La taille du génome viral est extrêmement variable, de 10^6 daltons pour les plus petits à $100-160 \cdot 10^6$ daltons pour les plus grands. Les plus grands génomes codent pour plus d'une centaine de protéines.

L'enveloppe

Certains virus possèdent une nucléocapside entourée d'une membrane externe appelée enveloppe. Ces virus sont alors des virus enveloppés. Pour les virus animaux, l'enveloppe correspond à un fragment membranaire de la cellule cible. Des protéines d'origine virale sont incluses dans cette enveloppe. C'est par ces protéines d'enveloppe que le virus va se fixer et pénétrer dans les cellules cibles. L'intégrité de l'enveloppe est donc nécessaire à l'infectiosité du virus.

Enzymes et protéines régulatrices

Certains virus possèdent des enzymes et des protéines régulatrices associées à la nucléocapside ou codées par leur génome. Ces molécules sont impliquées dans de nombreuses étapes de la réplication des virions : réplication de l'acide nucléique, intégration au génome cellulaire, régulation de l'expression des gènes viraux, maturation des protéines virales...

Taxinomie

Les virus sont classés en familles, sous-familles, genre et espèces. Le nom de la famille se termine par *viridae*, le nom de la sous-famille (si elle existe) se termine par *virinae* et le nom de genre ou d'espèce par *virus* (Tableau 1.10).

La classification des virus est basée sur :

- la nature de l'acide nucléique ;
- la symétrie de la capsid ;
- la présence ou l'absence d'enveloppe.

Tableau 1.10 : classification de quelques virus animaux.

Famille	Acide Nucléique	Env/Nu	Taille (nm)	Exemples
<i>Poxviridae</i>	ADN db Lin	Enveloppé	350 x 250	Variole
<i>Herpesviridae</i>	ADN db Lin	Enveloppé	200	HSV-1 et -2, VZV, EBV, HCMV
<i>Adenoviridae</i>	ADN db Lin	Nu	75	
<i>Parvoviridae</i>	ADN sb Lin	Nu	20	
<i>Hepadnaviridae</i>	ADN db Circ part	Enveloppé	42	HBV
<i>Papovaviridae</i>	ADN db Circ	Nu	50	Papillomavirus
<i>Picornaviridae</i>	ARN sb +	Nu	27	Rhinovirus, Poliovirus, HAV
<i>Togaviridae</i>	ARN sb +	Enveloppé	50	Rubéole
<i>Retroviridae</i>	ARN sb +	Enveloppé	50	HIV, HTLV
<i>Orthomyxoviridae</i>	ARN sb - seg	Enveloppé	110	Influenza (grippe)
<i>Paramyxoviridae</i>	ARN sb -	Enveloppé	200	Oreillons, rougeole
<i>Rhabdoviridae</i>	ARN sb -	Enveloppé	170x70	Rage
<i>Reoviridae</i>	ARN db seg	Nu	65	Rotavirus (gastroentérites)

db = double brin, sb = simple brin, Lin = linéaire, Circ = circulaire, part = partiel, seg = segmenté

Cycle de réplication dans une cellule cible

La multiplication des virus animaux va se faire selon le schéma suivant : fixation, pénétration, décap-sidation, réplication de l'acide nucléique et synthèse des protéines, assemblage, libération. Cependant, la nature des cellules infectées et les modalités de la multiplication virale dans ces cellules sont extrê-mement variables selon le type de virus. En particulier selon qu'il est nu ou enveloppé, que son acide nucléique est de l'ADN ou de l'ARN, que son génome est plus ou moins complexe... Pour chaque virus, le cycle de réplication sera détaillé dans le chapitre correspondant.

Les Herpesvirus

La famille des *Herpesviridae* contient huit virus infectant l'homme qui sont répartis en trois sous-familles, les α - β - et γ - *Herpesvirinae* (Tableau 1.11). Tous les membres de cette famille possèdent

certaines caractéristiques virologiques communes, mais les types cellulaires infectés, et donc les manifestations cliniques de l'infection, divergent d'un virus à l'autre. Les conditions requises pour la fixation et la pénétration des virus dans la cellule hôte peuvent, au moins en partie, expliquer les différences de tropisme observées entre les sous-familles, ou les différents membres au sein d'une même sous-famille.

Tableau 1.11 : nomenclature des *Herpesviridae*.

Nomenclature internationale	Nom courant	Sous-famille
HHV-1	Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1)	<i>Alpha-Herpesvirinae</i>
HHV-2	Herpes Simplex Virus-2 (HSV-2)	<i>Alpha-Herpesvirinae</i>
HHV-3	Varicelle-Zona Virus (VZV)	<i>Alpha-Herpesvirinae</i>
HHV-4	Epstein-Barr Virus (EBV)	<i>Gamma-Herpesvirinae</i>
HHV-5	Cytomégalo virus humain (HCMV)	<i>Bêta-Herpesvirinae</i>
HHV-6		<i>Bêta-Herpesvirinae</i>
HHV-7		<i>Bêta-Herpesvirinae</i>
HHV-8		<i>Gamma-Herpesvirinae</i>

Caractéristiques virologiques générales

Les *Herpesviridae* sont des virus enveloppés dont la particule mesure 150 à 200 nm de diamètre (Figure 1.11). Leur capside possède une symétrie icosaédrique et leur acide nucléique est un ADN linéaire double brin de grande taille (de 145 kb pour HHV-7 à 230 kb pour le HCMV). Le génome des *Herpesviridae* code pour un grand nombre de protéines de structure, d'enzymes et de protéines régulatrices. Il contient des gènes désignés comme immédiats, précoces et tardifs selon la cinétique de leur transcription au cours du cycle de réplication viral.

Ces virus sont fragiles et survivent mal dans le milieu externe; la contamination est donc interhumaine par contact direct. Dans tous les cas, la primo-infection évolue vers un portage chronique latent qui peut être à l'origine de récurrences. La prévalence des infections à *Herpesviridae* est extrêmement élevée. Primo-infections et récurrences guérissent le plus souvent sans séquelles chez un patient immunocompétent. Par contre, ces infections peuvent avoir des conséquences graves chez le patient immunodéprimé, en particulier dans le cas de traitement immunosuppresseur chez les patients greffés, et en cas d'infection par le HIV.

Cycle de réplication (Figure 1.12)

L'entrée des virus dans la cellule cible se fait en deux étapes : attachement et pénétration par fusion. Tous les herpesvirus, à l'exception du virus d'Epstein-Barr (EBV), se fixent sur la cellule cible par interaction entre une glycoprotéine d'enveloppe du virus et un protéoglycane à héparane sulfate de la surface cellulaire. Pour l'EBV, cette fixation fait interagir la molécule d'enveloppe gp350 avec le CD21 exprimé par les lymphocytes B. Cette étape de fixation ne permet pas la pénétration de la particule, même si elle la facilite. La pénétration dans la cellule cible est réalisée par interaction entre un complexe glycoprotéique de l'enveloppe virale et un récepteur de fusion exprimé par la cellule cible. Le complexe glycoprotéique d'enveloppe est constitué des glycoprotéines gB, gH et gL, associées à une glycoprotéine spécifique selon le virus et le récepteur cellulaire. Le tableau 1.12 résume les dif-

Figure 1.11 : représentation schématique d'un virus de la famille des Herpesviridae.

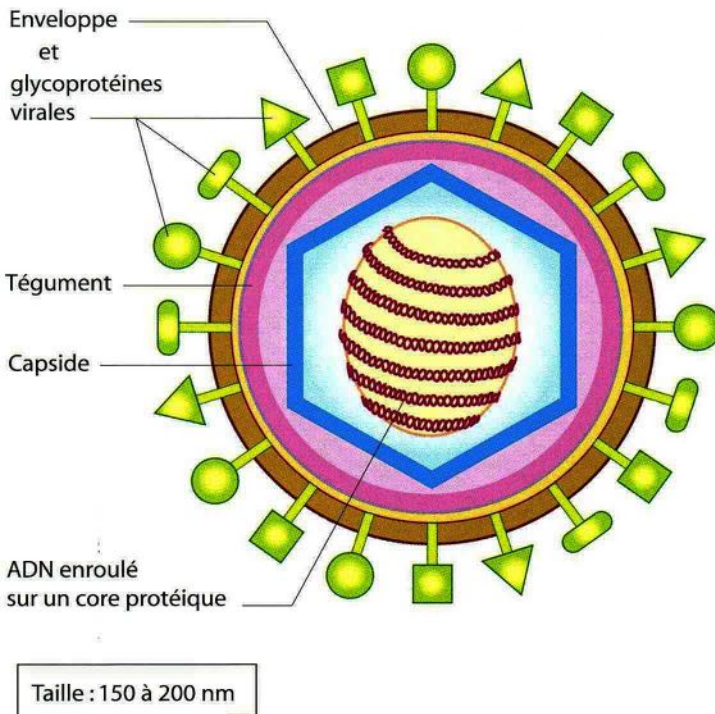


Tableau 1.12 : ligands viraux et récepteurs cellulaires de fusion selon le type de virus.

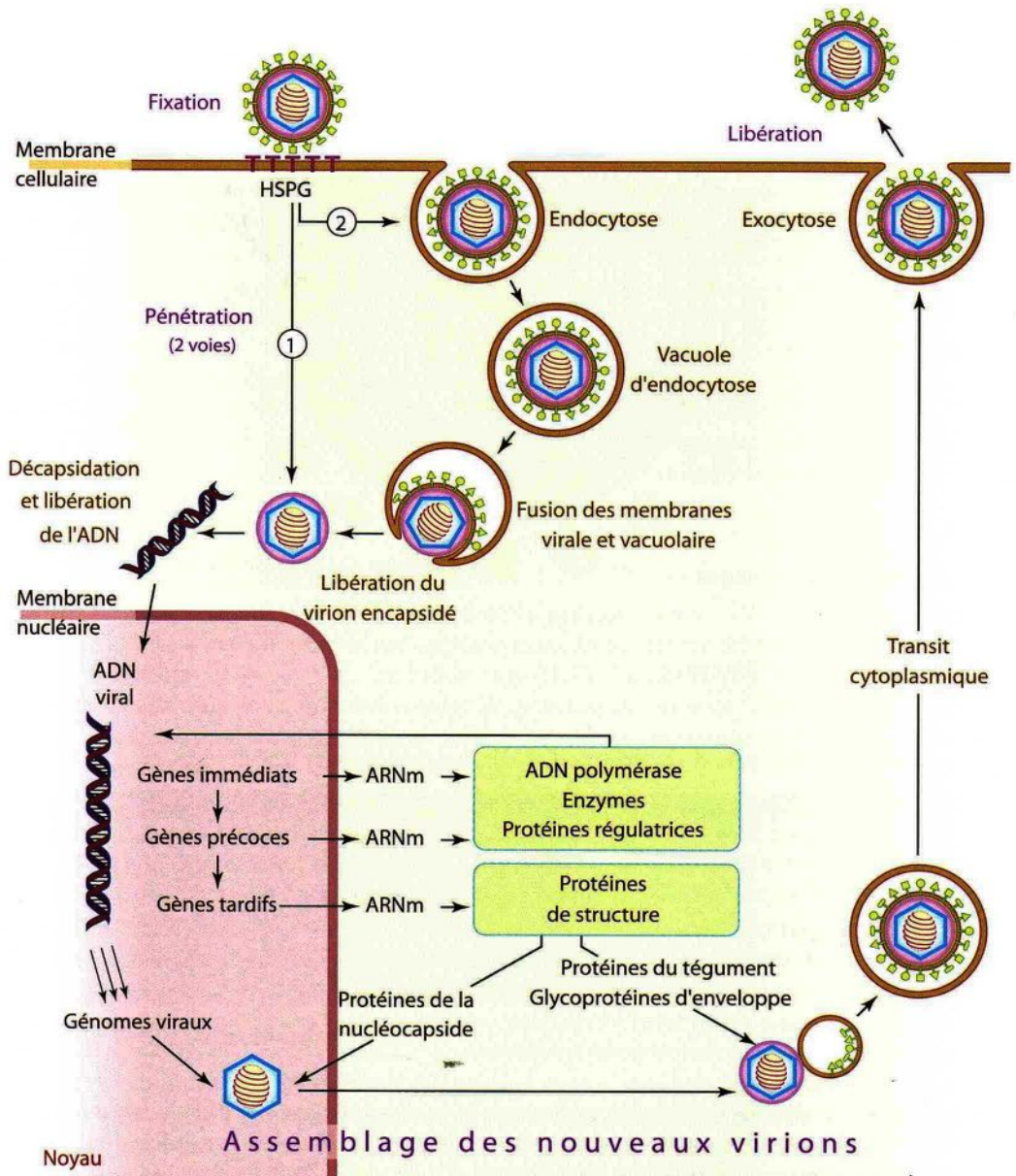
Virus	Glycoprotéine virale	Récepteur cellulaire	Famille de récepteur
HSV-1, HSV-2	gD	Herpesvirus Entry Mediator (HVEM)	Récepteur du TNF
		Nectin-1, Nectin-2	Superfamille des Ig
		3-O-sulfated heparane sulfate	Glycosaminoglycane
EBV	gp42 (Lymphocyte B)	HLA Classe II	Superfamille des Ig
	<i>BMFR2</i> , <i>gH</i> (Cel. épith.)	<i>Intégrine</i>	Intégrine
HHV-8	<i>gB par motif RGD</i>	<i>CD49c/29</i>	Intégrine $\alpha 3 \beta 1$

D'après Spear et Longnecker, J Virol 2003 ; 77, 10179-85.

Les italiques correspondent à des résultats encore hypothétiques.

férentes molécules identifiées selon le type de virus et la cible cellulaire. La pénétration du virus se fait soit par fusion entre l'enveloppe du virus et la membrane plasmique, soit par endocytose et fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la vacuole d'endocytose. Dans les deux cas, la nucléocapside et le tégument sont libérés dans le cytoplasme. Après décapsidation, l'ADN viral pénètre dans le noyau de la cellule cible où il est transcrit et répliqué. Le génome des *Herpesviridae* comprend des gènes immédiats, précoces et tardifs. Les protéines produites par les gènes les plus précoces régulent l'expression des gènes plus tardifs. Les protéines de structure résultent de la traduction des gènes tardifs. L'ADN viral est répliqué par une ADN polymérase virale. La nucléocapside est assemblée

Figure 1.12 : cycle de réplication des Herpesviridæ.



dans le noyau et libérée dans le cytoplasme où le tégument est ajouté. L'enveloppement se fait à partir de la membrane de l'appareil de Golgi, les nouveaux virions sont transportés jusqu'à la membrane par les vésicules post-golgiennes et sont libérés par exocytose.

Les virions peuvent également passer directement de cellule à cellule en provoquant la fusion des membranes de cellules adjacentes.

Traitement

Chez l'individu immunocompétent, les primo-infections par *Herpesviridae* sont asymptomatiques ou symptomatiques (varicelle, roséole, mononucléose infectieuse, stomatite herpétique...), mais guérissent spontanément. En général, le traitement n'est alors pas indiqué dans la mesure où il n'améliore pas significativement l'évolution qui est par elle-même favorable. Le traitement de ces infections sera donc indiqué dans les formes sévères ou graves, dans les cas de récurrences (herpès labial, herpès génital, zona) et chez les patients immunodéprimés (transplantés sous immunosuppresseurs, infections par le HIV).

La majorité des traitements anti-herpétiques utilisent des analogues de nucléosides qui agissent sur l'ADN polymérase virale et bloquent l'élongation de la chaîne d'ADN lors de la réplication du génome (Tableau 1.13).

Tableau 1.13 : antiviraux actifs sur les herpesvirus.

Principe actif	Nom de spécialité
Aciclovir/Valaciclovir	Zovirax®, Activir®, AciclovirGNR®, Aciclovir RPG®/Zelitrex®, Valtrex®
Famciclovir	Oravir®
Ganciclovir/Valganciclovir	Cymevan®, Virgan®/Roalcyte®
Cidofovir	Vistid®
Foscarnet	Foscavir®

L'aciclovir est un analogue de la guanosine. Cette molécule agit sélectivement sur les cellules infectées, elle constitue donc un traitement anti-herpétique extrêmement efficace et bien toléré. La forme active de la molécule est l'aciclovir triphosphate. La première étape de phosphorylation est réalisée par la thymidine kinase virale. L'aciclovir monophosphate est ensuite transformé en aciclovir triphosphate par des enzymes cellulaires. L'aciclovir triphosphate est utilisé préférentiellement par l'ADN polymérase virale, il est considéré comme 30 à 50 fois plus actif sur l'ADN polymérase virale que sur les polymérases cellulaires. L'incorporation d'aciclovir triphosphate bloque l'élongation de la chaîne, et donc la réplication de l'ADN viral. Dans une cellule non infectée, l'aciclovir n'est pas phosphorylé et n'aura donc pas d'effet possible sur les polymérases cellulaires. La double restriction virale (thymidine kinase + ADN polymérase) confère à cette molécule sa très grande spécificité et sa remarquable tolérance. Cependant, la biodisponibilité de la forme orale d'aciclovir étant faible (10-20%), on lui préfère le valaciclovir pour ce mode d'administration. Le valaciclovir est de l'aciclovir estérifié par la L-valine, il est bien absorbé (50%) et rapidement transformé en aciclovir dans le foie.

L'aciclovir est inefficace (ou peu efficace) sur les souches qui ne possèdent pas de thymidine kinase (TK-). La phosphotransférase du cytomégalo virus humain (HCMV) est susceptible de phosphoryler l'aciclovir en aciclovir monophosphate mais avec une efficacité plus faible que la thymidine kinase des *α-herpesvirinae*, le ganciclovir sera donc préféré à l'aciclovir pour le traitement des infections à

HCMV. La résistance à l'aciclovir est plus souvent due à une mutation du gène de la thymidine kinase virale qu'à une mutation du gène de l'ADN polymérase, 95 % des isolats résistants à l'aciclovir présentent un phénotype TK déficient.

Le penciclovir est un autre analogue de la guanosine dont le mode d'action est similaire à celui de l'aciclovir. La plupart des mutants résistants à l'aciclovir sont également résistants au penciclovir. Comme pour l'aciclovir, le famciclovir est utilisé comme forme orale de penciclovir dont la biodisponibilité est faible par voie orale. Le famciclovir est un ester diacétylé du penciclovir utilisé comme médicament et bien absorbé.

Aciclovir/valaciclovir et penciclovir/famciclovir sont indiqués dans les traitements des infections à HSV-1 ou -2, et à VZV. Les formes orales sont habituellement prescrites pour traiter l'herpès génital et le zona. Les applications topiques sont utilisées pour l'herpès labial, oculaire et génital. Les formes intraveineuses sont utilisées pour les formes sévères d'infection (encéphalite herpétique, herpès néonatal) et chez les patients immunodéprimés.

Le ganciclovir est un analogue nucléosidique de la guanosine. La forme active est une forme triphosphate, la première étape de phosphorylation du ganciclovir est réalisée par une phosphotransférase présente chez le HCMV, les deux suivantes par des kinases cellulaires. Le ganciclovir triphosphate est utilisé par l'ADN polymérase virale, il bloque l'élongation de la chaîne, et donc la réplication de l'ADN viral dans les cellules infectées par le HCMV. Les résistances apparaissent par mutations des gènes de la phosphotransférase ou de l'ADN polymérase. Il existe une forme de ganciclovir estérifié par la L-valine : le valganciclovir.

Le ganciclovir est indiqué dans le traitement des infections à cytomégalo-virus chez les patients immunodéprimés (en particulier : greffés sous traitement immunosuppresseur, patients infectés par le HIV).

Le cidofovir est un analogue nucléotidique de la cytosine phosphate. Il est phosphorylé par les kinases cellulaires en un dérivé actif qui inhibe l'ADN polymérase virale. Comme il n'est pas dépendant d'une enzyme virale pour être actif, le cidofovir sera efficace sur les souches TK- et sur celles qui présentent une résistance par mutation du gène de la thymidine kinase ou de la phosphotransférase. La résistance au cidofovir est rare, elle est due à une mutation du gène de l'ADN polymérase.

Le cidofovir est indiqué en cas de résistance à l'un des traitements précédents, en particulier chez les patients immunodéprimés.

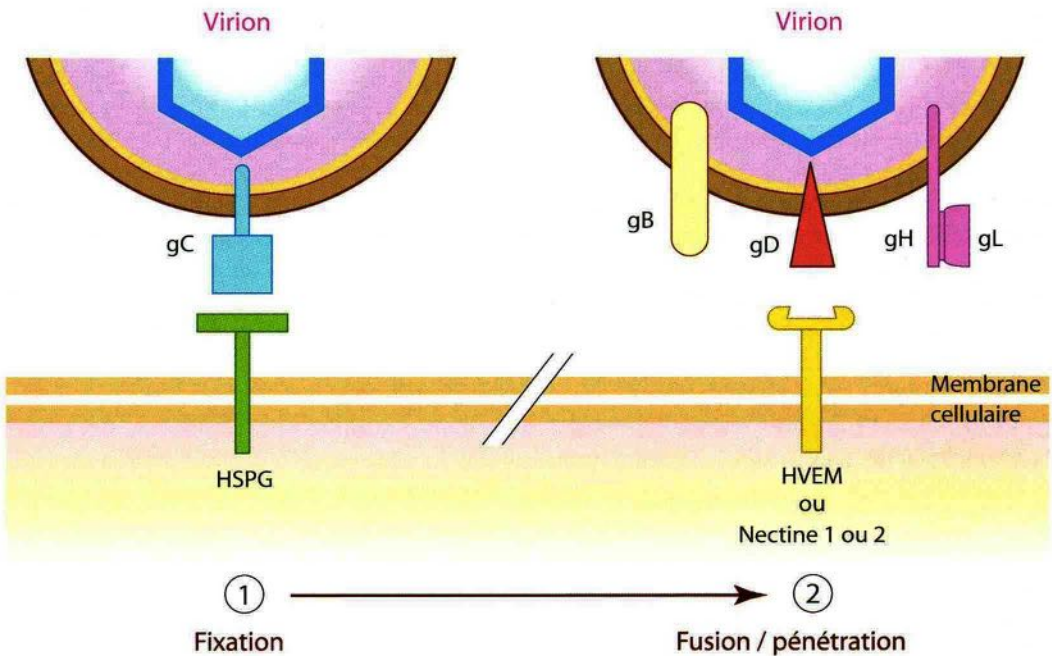
Le foscarnet est un analogue du pyrophosphate. Il agit par inhibition non compétitive de l'ADN polymérase virale en se fixant au site de liaison du pyrophosphate. Le foscarnet est directement actif, il sera donc efficace sur les souches TK- et sur celles qui présentent une résistance par mutation du gène de la thymidine kinase ou de la phosphotransférase. Le foscarnet n'existe que sous forme intraveineuse. Les résistances sont rares, elles correspondent à des mutations du gène de l'ADN polymérase.

Herpes Simplex Virus (HSV)

Les herpès simplex virus (HSV) appartiennent à la sous-famille des *α -Herpesvirinae*, genre *Simplexvirus*. Les HSV sont des virus dermo-neurotropes. Ils se fixent sur leur cellule cible par leur protéine d'enveloppe gC qui lie une chaîne d'héparane sulfate des protéoglycanes de la surface cellulaire. Cette fixation permet l'interaction du complexe moléculaire constitué par les glycoprotéines gB, gH, gL et

gD avec le récepteur de fusion cellulaire. La molécule gD lie spécifiquement le récepteur de fusion, mais le complexe moléculaire gB-gH-gL-gD est nécessaire à la pénétration du virion (Figure 1.13). Trois types de récepteurs de fusion liant gD ont été décrits : l'*HerpesVirus Entry Mediator* (HVEM), les nectines -1 et -2 et des formes spécifiques d'héparane sulfate (3-O-sulfated heparane sulfate). HVEM est exprimé par les lymphocytes, certains leucocytes, les cellules épithéliales et les fibroblastes. Les nectines -1 et -2 sont exprimées par différents types cellulaires incluant les cellules épithéliales, les fibroblastes et les neurones. Cependant, si les HSV peuvent infecter de nombreux types cellulaires, il semble qu'*in vivo* ce soient principalement les cellules épithéliales et les neurones qui répliquent activement ces virus.

Figure 1.13 : molécules intervenant dans la fixation et la pénétration des virus de l'herpès (HSV).



HSPG (Heparan Sulfate Proteoglycan) : Protéoglycane comportant des chaînes d'héparane sulfate

HVEM (Herpesvirus Entry Mediator) et Nectine 1 ou 2 : Protéines jouant le rôle de récepteurs de fusion

gC, gB, gD, gH/gL : glycoprotéines exprimées sur l'enveloppe virale

Les virus pénètrent dans l'organisme par une muqueuse orale, génitale ou oculaire où ils se répliquent activement. Ils infectent ensuite les terminaisons nerveuses et remontent jusqu'aux corps cellulaires dans les ganglions sensitifs. Les ganglions constituent un réservoir de virus latents. Les récurrences apparaissent après l'activation du neurone par certains stimuli (UV, stress, traumatisme local, changement hormonal...), il y a alors production de particules virales qui quittent les neurones par les dendrites. Les cellules épithéliales sont alors infectées à partir des terminaisons nerveuses. La réplication active dans les cellules épithéliales signe la récurrence. Primo-infections et récurrences peuvent être symptomatiques ou asymptomatiques.

Il existe deux types d'HSV : HSV-1 et HSV-2. HSV-1 est plus particulièrement associé à l'herpès labial et HSV-2 à l'herpès génital.

La prévalence des infections à HSV est très élevée, il est estimé que 65 à 90 % des adultes sont infectés par au moins un des deux virus.

Les formes graves d'infections herpétiques sont : la kératite herpétique, l'encéphalite herpétique et l'herpès néonatal.

Virus de la varicelle et du zona (VZV)

Le virus de la varicelle et du zona (VZV) appartient à la sous-famille des *α -Herpesvirinae*, genre *Varicellovirus*.

Le VZV est un virus dermo-neurotrope. La primo-infection par le VZV se traduit par une varicelle et les récurrences par un zona.

Le VZV se fixe sur la cellule cible par interaction entre une glycoprotéine d'enveloppe et une chaîne d'héparane sulfate d'un protéoglycane de la membrane cellulaire. Les mécanismes moléculaires qui permettent la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire ne sont pas encore bien décrits dans le cas du VZV. La glycoprotéine gD des HSV n'est pas exprimée par le VZV et gL n'est pas associé à gH à la surface cellulaire. Il semble cependant admis que la fusion nécessite la présence dans le virion de gH et gL, ou de gB et gE. Dans le premier cas, gL aurait un rôle de chaperon permettant l'expression membranaire de gH mature qui serait l'élément de fusion. Dans le second cas, gE permettrait l'attachement et activerait la fusion qui serait assurée par gB. Par ailleurs, gE favoriserait l'adhésion intercellulaire et serait impliquée dans le transfert de virions de cellule à cellule et dans la formation des syncytia classiquement retrouvés dans les lésions. Les récepteurs cellulaires des glycoprotéines du VZV n'ont pas été identifiés, mais il est suggéré que gE pourrait interagir avec l'E-cadhérine.

La varicelle est une maladie infantile qui touche la très grande majorité de la population. On estime que 90 à 95 % des adultes sont séropositifs pour le VZV. Le zona est dû à une réactivation du virus (récurrence). Il peut apparaître à n'importe quel âge, mais il est plus fréquent après 50 ans.

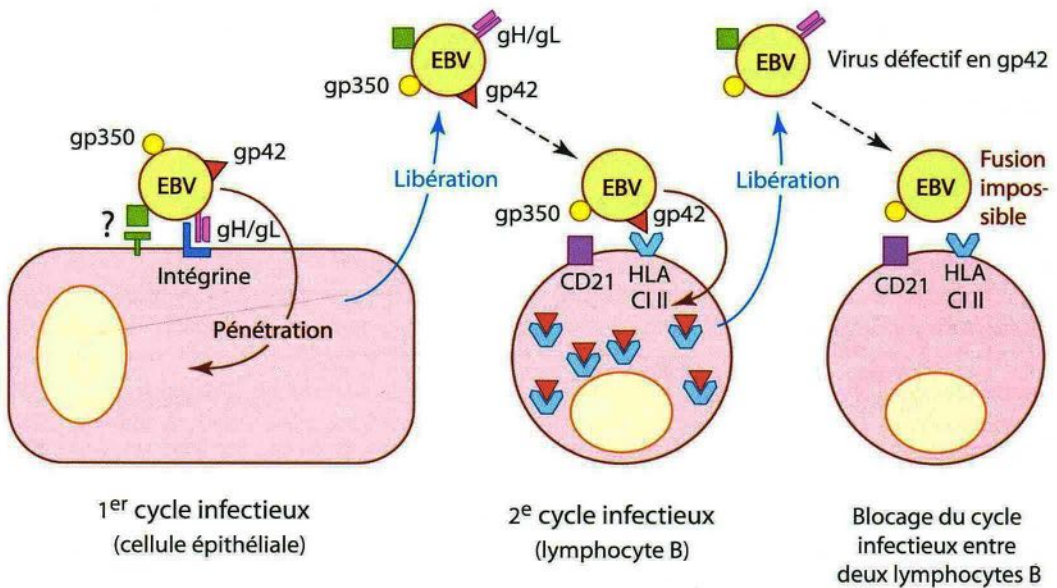
Virus d'Epstein-Barr (EBV)

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) appartient à la sous-famille des *γ -Herpesvirinae*, genre *Lymphocryptovirus*.

L'EBV infecte les lymphocytes B, mais également les cellules épithéliales. L'EBV se fixe sur les lymphocytes B par interaction entre la glycoprotéine d'enveloppe gp350 et la molécule CD21 (récepteur du complément) exprimée par la membrane du lymphocyte. La pénétration de l'EBV dans les lymphocytes B nécessite l'interaction de la glycoprotéine d'enveloppe gp42 avec une molécule HLA de classe II exprimée par le lymphocyte B. Après liaison gp42/HLA classe II, la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire nécessite l'action du complexe gB/gH-gL exprimé par l'enveloppe virale, de manière analogue à ce qui est décrit pour les HSV (Figure 1.13). Les cellules épithéliales n'expriment ni le CD21 ni les molécules HLA de classe II, les interactions moléculaires qui permettent l'infection des cellules épithéliales sont donc différentes de celles décrites pour l'infection des lymphocytes B (Tableau 1.12). Ainsi, l'infection des cellules épithéliales peut se faire sans l'expression de gp350 et de gp42 par l'enveloppe virale. Cependant, les deux types cellulaires sont capables de répliquer activement le virus et ils pourraient jouer des rôles complémentaires dans l'initiation et le maintien de l'infection chronique. En effet, les virions produits par les cellules épithéliales infec-

tent plus facilement les lymphocytes B que de nouvelles cellules épithéliales et *vice versa*. Lors de la réplication dans les lymphocytes B, l'enveloppe des virions produits exprime peu (ou pas) de gp42 car il existe une rétention intracellulaire de gp42 par les molécules HLA de classe II (Figure 1.14). Ces virus défectifs infectent préférentiellement les cellules épithéliales puisque la pénétration dans ces cellules ne fait pas intervenir gp42.

Figure 1.14 : blocage du cycle infectieux d'EBV entre deux lymphocytes B par séquestration intracellulaire des gp 42 complexées aux molécules HLA de classe II (HLA CI II) néosynthétisées.



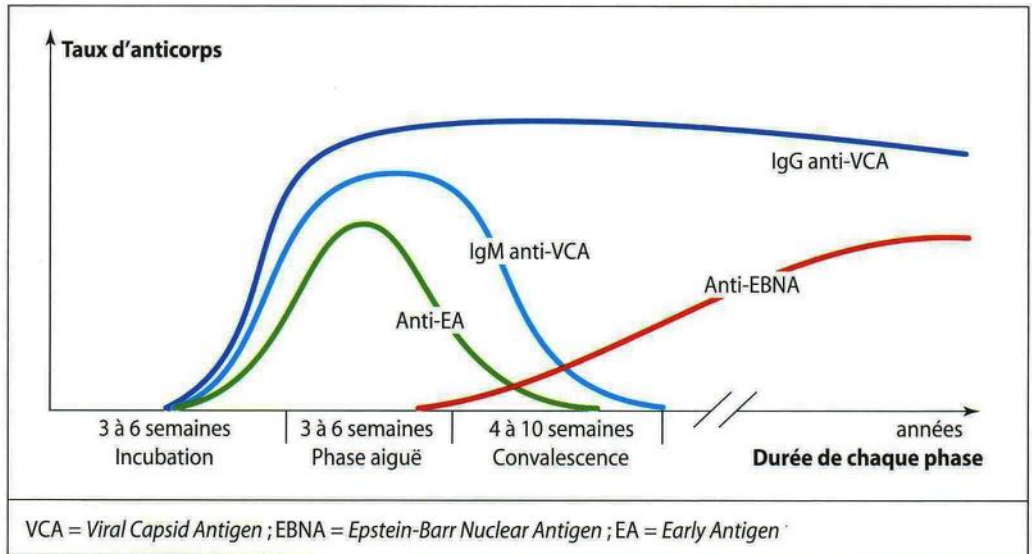
L'EBV est retrouvé dans la salive qui est considérée comme le vecteur habituel de transmission. La primo-infection par l'EBV commence par l'infection des cellules épithéliales oropharyngées, le virus est ensuite transmis aux lymphocytes B qui constituent le réservoir des virus latents.

L'EBV a également été mis en évidence dans les sécrétions génitales qui sont donc susceptibles d'être contaminantes.

On estime que plus de 90 % des adultes dans le monde sont porteurs de l'EBV. La primo-infection se fait généralement dans la petite enfance lors d'un contact avec un adulte du proche entourage, elle est généralement asymptomatique. Lorsqu'elle est plus tardive (adolescence, âge adulte) elle entraîne une mononucléose infectieuse dans environ 50 % des cas. La primo-infection est suivie d'une infection chronique définitive généralement asymptomatique chez les individus immunocompétents. La spécificité des anticorps sériques permet d'établir le diagnostic d'infection aiguë par l'EBV (Figure 1.15). Celle-ci est caractérisée par la présence d'anticorps dirigés contre l'antigène EA (*Early Antigen*) et l'absence d'anticorps anti-EBNA (*Epstein-Barr Nuclear Antigen*). Les IgG dirigées contre l'antigène de capside (VCA) apparaissent très tôt et persistent probablement pendant toute la vie. L'infection par l'EBV peut être associée à différentes pathologies lymphoïdes ou épithéliales dont la fréquence augmente chez les individus immunodéprimés, infectés ou non par le HIV. Les patholo-

gies tumorales associées à l'infection par l'EBV sont le lymphome de Burkitt, la maladie de Hodgkin, le syndrome lymphoprolifératif lié à l'X, les syndromes lymphoprolifératifs B après transplantation ou associés à une infection HIV, des lymphomes T et NK, le carcinome nasopharyngé, certaines formes de cancer gastrique et la leucoplasie chevelue.

Figure 1.15 : évolution des anticorps sériques dans la mononucléose infectieuse.



Cytomégalo­virus humain (HCMV)

Le cytomégalo­virus (HCMV) appartient à sous-famille des β -Herpesvirinae, genre *Cytomegalovirus*. Au cours de l'infection naturelle, l'HCMV peut se répliquer dans les cellules épithéliales et endothéliales, les cellules du muscle lisse, les hépatocytes, les granulocytes et les macrophages. L'HCMV se fixe sur ses cibles cellulaires par liaison entre la glycoprotéine gB de l'enveloppe et les chaînes d'héparane sulfate des protéoglycanes membranaires. La pénétration se fait par un mécanisme de fusion qui nécessite la présence du complexe gH-gL-gO, lequel interagit avec un récepteur de la surface cellulaire non encore identifié. Le cytomégalo­virus peut pénétrer dans un grand nombre de types cellulaires, mais seulement certains d'entre eux sont capables de répliquer activement le virion.

Le virus entre dans l'organisme par l'épithélium aéro-digestif supérieur ou par l'épithélium génital. Il est ensuite disséminé dans l'organisme par les leucocytes et les cellules endothéliales. La dissémination hématogène du virus est suivie par l'infection des cellules de différents organes. Les cellules infectées présentent un aspect histologique typique avec des inclusions nucléaires, qui leur confère la caractéristique de « cytomégaliques ». Ces cellules sont retrouvées dans les canaux des glandes salivaires et le canal biliaire, les tubules bronchiaux et rénaux, l'épithélium de l'oreille interne, l'endothélium capillaire, les astrocytes et les neurones.

L'infection par l'HCMV est une pandémie à séroprévalence élevée. La primo-infection peut se faire *in utero*, pendant l'enfance ou à l'âge adulte par contact direct avec un individu répliquant activement le virus. La primo-infection conduit à un portage chronique latent qui peut être à l'origine de phases de répllication active (récurrences). Après infection, le virus est excrété dans l'urine, la salive, les larmes, les sécrétions génitales et le lait maternel. La primo-infection et les récurrences sont généralement asymptomatiques, mais elles peuvent se traduire par des atteintes viscérales graves chez le sujet immunodéprimé. Environ 8 % des cas de mononucléose infectieuse sont dus à une infection par l'HCMV.

HHV-6, HHV-7

HHV-6 et HHV-7 sont deux β -*Herpesvirinae*, appartenant au genre *Roseolovirus*. Ils ont été isolés à partir de lymphocytes T CD4 +. HHV-6 a été identifié en 1986 à partir du sang périphérique de patients souffrant de syndromes lymphoprolifératifs, alors qu'HHV-7 n'a été identifié qu'en 1990 dans les lymphocytes T CD4 + d'un adulte sain. Ces deux virus sont assez proches du cytomégalo-virus et ont été classés dans la même sous-famille. Leur prévalence est forte (> 90 %), la contamination a lieu tôt dans la petite enfance par contact avec un individu porteur de l'entourage proche. La primo-infection est asymptomatique ou responsable d'une roséole fébrile plus fréquente pour HHV-6 que pour HHV-7. La primo-infection par HHV-6 est responsable de quelques cas de syndrome pseudo-mononucléosique. Le vecteur de contamination est très probablement la salive dans laquelle l'ADN viral peut être identifié. L'infection chronique latente est asymptomatique chez les individus immunocompétents.

HHV-6 serait responsable de certaines complications chez des patients greffés sous traitement immunosuppresseur et pourrait agir comme cofacteur accélérant le passage au stade SIDA chez les individus infectés par le HIV. De même, il a été évoqué dans l'étiologie de certains cancers : lymphomes, leucémies, carcinome oral, carcinome du col de l'utérus.

HHV-6 infecte principalement les lymphocytes T CD4 + et à un moindre degré les lymphocytes T CD8 +, les cellules NK, les monocytes et les macrophages, les cellules épithéliales et endothéliales et les neurones. HHV-7 ne semble infecter que les lymphocytes T CD4 +, il pourrait utiliser le CD4 comme récepteur.

HHV-8

L'HHV-8 appartient à la sous-famille des γ -*Herpesvirinae*, genre *Rhadinovirus*.

L'HHV-8 infecte les lymphocytes B, les macrophages, les cellules endothéliales et les cellules épithéliales. Les modalités de transmission du virus ne sont pas encore complètement établies. Cependant, des virions ont été détectés dans la salive qui semble être le vecteur le plus vraisemblable de l'infection. Le virus pénétrerait dans l'organisme par l'oropharynx, se répliquerait activement dans les cellules épithéliales et serait transmis aux lymphocytes B qui constitueraient le réservoir de virus latents.

La séroprévalence de l'HHV-8 est extrêmement variable selon la zone géographique concernée. En Europe (Italie exceptée) et en Amérique du Nord, elle serait de 1 à 8 %. En Italie, la séroprévalence serait de 25-30 % dans le sud et 10 % dans le nord. En Afrique, 40 à 70 % des adultes seraient infectés. Tous les cas de sarcome de Kaposi sont associés à une infection par l'HHV-8, qui est parfois nommé « *Kaposi Sarcoma associated Herpes Virus (KSHV)* » dans la littérature anglo-saxonne.

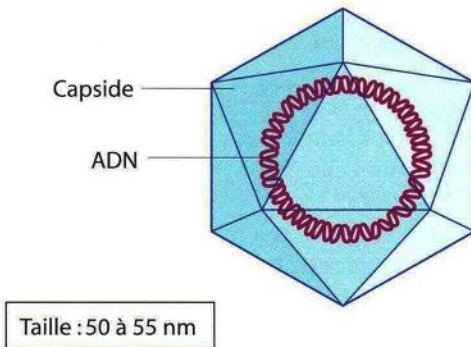
Les papillomavirus humains (HPV)

Caractéristiques virologiques

Les papillomavirus humains appartiennent à la famille des *Papovaviridae*, genre *Papillomavirus*. Ce sont des virus nus dont la capside icosaoédrique est constituée de 72 capsomères et mesure 50 à 55 nm de diamètre (Figure 1.16). Leur génome est constitué d'un ADN double brin circulaire d'environ 8 kb. Le génome des HPV code pour 8 protéines nommées selon la cinétique de transcription des gènes : les protéines précoces (E = Early) E1 à E7 et les protéines tardives (L = Late) L1 et L2. Les protéines précoces sont des protéines régulatrices de la transcription et de la réplication. Les protéines tardives sont les protéines de structure constituant la capside, L1 en étant la forme majeure et L2 la forme mineure. Plus de 80 génotypes différents d'HPV sont actuellement décrits.

Les protéines E6 et E7 des HPV 16 et 18 sont considérées comme des oncoprotéines. E6 et E7 lient respectivement les protéines cellulaires p53 et 105-RB (105 *Retinoblastoma gene product*) qui sont deux protéines qui limitent la multiplication cellulaire. L'inactivation de p53 ou 105-RB dérégule la prolifération cellulaire et peut être à l'origine d'une cancérisation.

Figure 1.16 : représentation schématique du virus du papillome humain (HPV).



Transmission et pouvoir pathogène

Les papillomavirus se transmettent par contact direct avec de la peau ou une muqueuse infectées. Leur bonne résistance dans le milieu externe permet également la contamination par contact avec des objets contaminés (linge de toilette par exemple).

Les papillomavirus infectent les cellules basales de l'épithélium cutané ou muqueux. Ils peuvent rester latents dans les cellules infectées ou, au contraire, se répliquer activement. Latence ou réplication active dépendent du stade de différenciation cellulaire. Ainsi, un virus restera à l'état latent dans les couches basales de l'épithélium et entrera dans un cycle de réplication active lorsque les cellules auront migré vers les couches superficielles et atteint leur stade de différenciation terminale. La réplication virale active s'accompagne d'une prolifération cellulaire anormale et d'une hyperkératose qui se traduisent par l'apparition de tumeurs bénignes, les papillomes et les verrues. Le tropisme tissulaire est restreint par type. Par exemple, les papillomavirus de types 1, 2, 4 et 27 sont responsables des verrues vulgaires des mains et des pieds, alors que les virus de types 6 et 11 ont un tropisme pour les muqueuses génitales et laryngées.

Les papillomavirus de type 16 et 18 sont considérés comme des virus oncogènes responsables de plus de 70% des cas de cancer du col de l'utérus. Cependant, moins de 5% des individus infectés par le HPV 16 développeront un cancer associé à l'infection. Treize autres types d'HPV sont également considérés comme cancérogènes.

Actuellement, différents essais cliniques sont en cours afin de tester des vaccins préventifs ou curatifs pour les patients infectés ou atteints de cancers.

Les virus de l'immunodéficience humaine (HIV)

Caractéristiques virologiques

Les HIV appartiennent à la famille des *Retroviridae*, sous-famille des *Lentivirinae*. Il existe deux HIV : HIV-1 et HIV-2. HIV-1 est très largement prédominant en Europe occidentale et aux États-Unis, alors qu'HIV-2 est principalement retrouvé en Afrique de l'Ouest. Les données décrites dans ce chapitre ont été établies pour HIV-1.

Le virus de l'immunodéficience humaine est un virus enveloppé dont la particule mesure 80 à 120 nm de diamètre (Figure 1.17). Sa capside est de symétrie cylindrique et son génome est constitué par un ARN simple brin dupliqué. Le génome du HIV contient des gènes codant les protéines de structure de la nucléocapside (Gag) et de l'enveloppe (Env), des gènes codant les enzymes virales (Pol) nécessaires à la rétrotranscription de l'ARN en ADN, à l'intégration de l'ADN dans le génome cellulaire et à la maturation des protéines, et des gènes régulateurs de la réplication (Vif, Vpr, Vpu, Rev, Tat et Nef) (Figure 1.18).

Figure 1.17 : représentation schématique du virus de l'immunodéficience humaine (HIV).

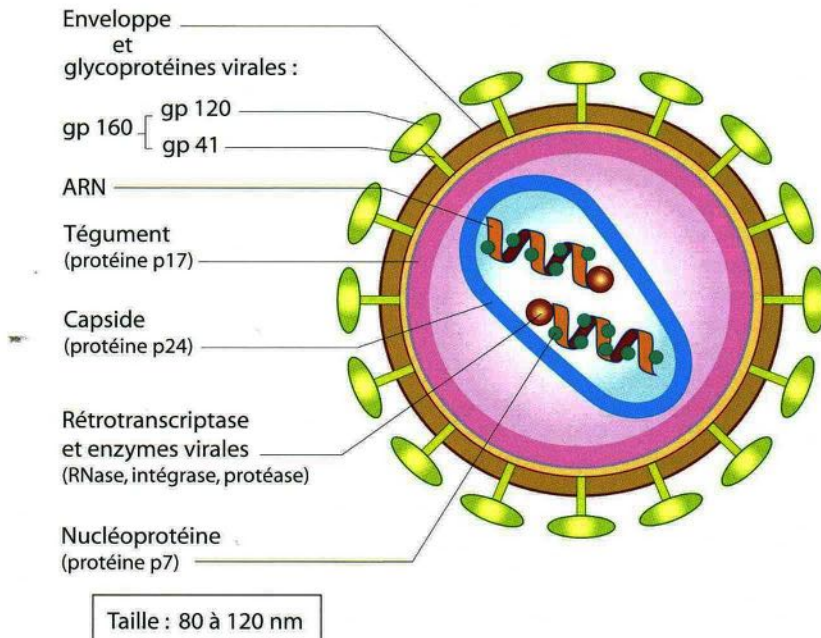
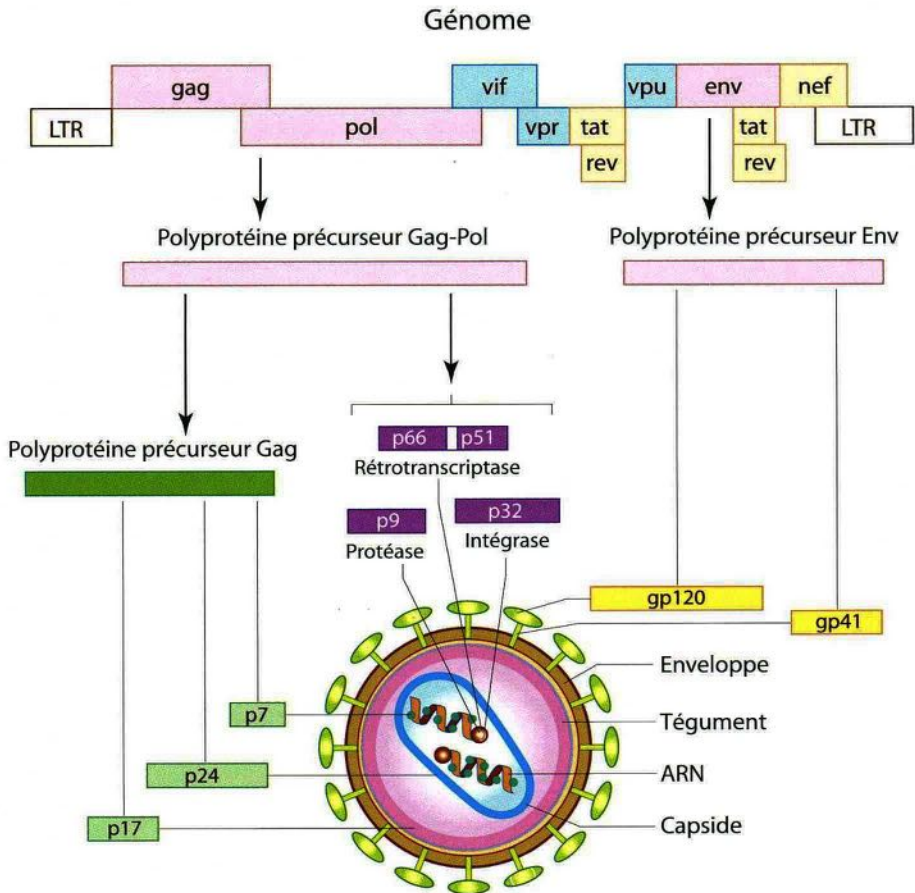


Figure 1.18 : organisation et expression du génome du HIV.



LTR (*Long Terminal Repeat*) : permet d'intégrer le génome viral dans l'ADN de la cellule hôte

gag : protéines de la nucléocapside

pol : rétrotranscriptase, intégrase, protéase, ribonucléase

env : protéines d'enveloppe

vif (*virion infectivity factor*) : augmente l'infectivité des virus libres

vpr (*viral protein R*) : activateur faible de transcription

vpu (*viral protein U*) : nécessaire au bourgeonnement

tat (*transactivator*) : activateur fort de transcription

rev (*regulator of viral protein expression*) : modulateur de l'épissage et régulateur de l'expression des gènes de structure

nef (*negative factor*) : inhibiteur de l'expression des gènes viraux et du trafic cellulaire de l'hôte

Cycle de réplication (Figure 1.19)

La fixation du HIV sur la cellule cible se fait par interaction entre la glycoprotéine gp120 de l'enveloppe virale et la molécule CD4 exprimée par la membrane de la cellule cible. Les principales

cellules cibles du HIV sont les cellules qui expriment la molécule CD4, c'est-à-dire les lymphocytes T CD4+, les monocytes, les macrophages, les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques. Cependant, la fixation de gp120 sur la molécule CD4 n'est pas suffisante pour permettre la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire et la pénétration de la particule virale. L'interaction avec un co-récepteur est nécessaire à l'infection cellulaire. Les deux co-récepteurs identifiés à ce jour sont les récepteurs de chimiokines CCR5 et CXCR4. L'interaction de gp160 avec le co-récepteur dissocie gp120 de gp41 et permet l'ancrage de gp41 dans la membrane cellulaire. L'insertion de gp41 entraîne la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire, ce qui libère la nucléocapside dans le cytoplasme.

La fixation du HIV sur certaines cellules cibles peut également se produire par un mécanisme alternatif qui fait intervenir des lectines liant le mannose, notamment la molécule DC-SIGN (*Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule 3 Grabbing Nonintegrin*) exprimée par les cellules dendritiques. L'interaction des protéines d'enveloppe avec DC-SIGN ne permet pas la pénétration du virus par fusion, mais peut jouer un rôle dans le transfert des particules virales de la périphérie vers les lymphocytes T CD4+ présents dans les ganglions lymphatiques. La capture des virions par les cellules dendritiques pourrait jouer un rôle important dans la contamination par voie muqueuse.

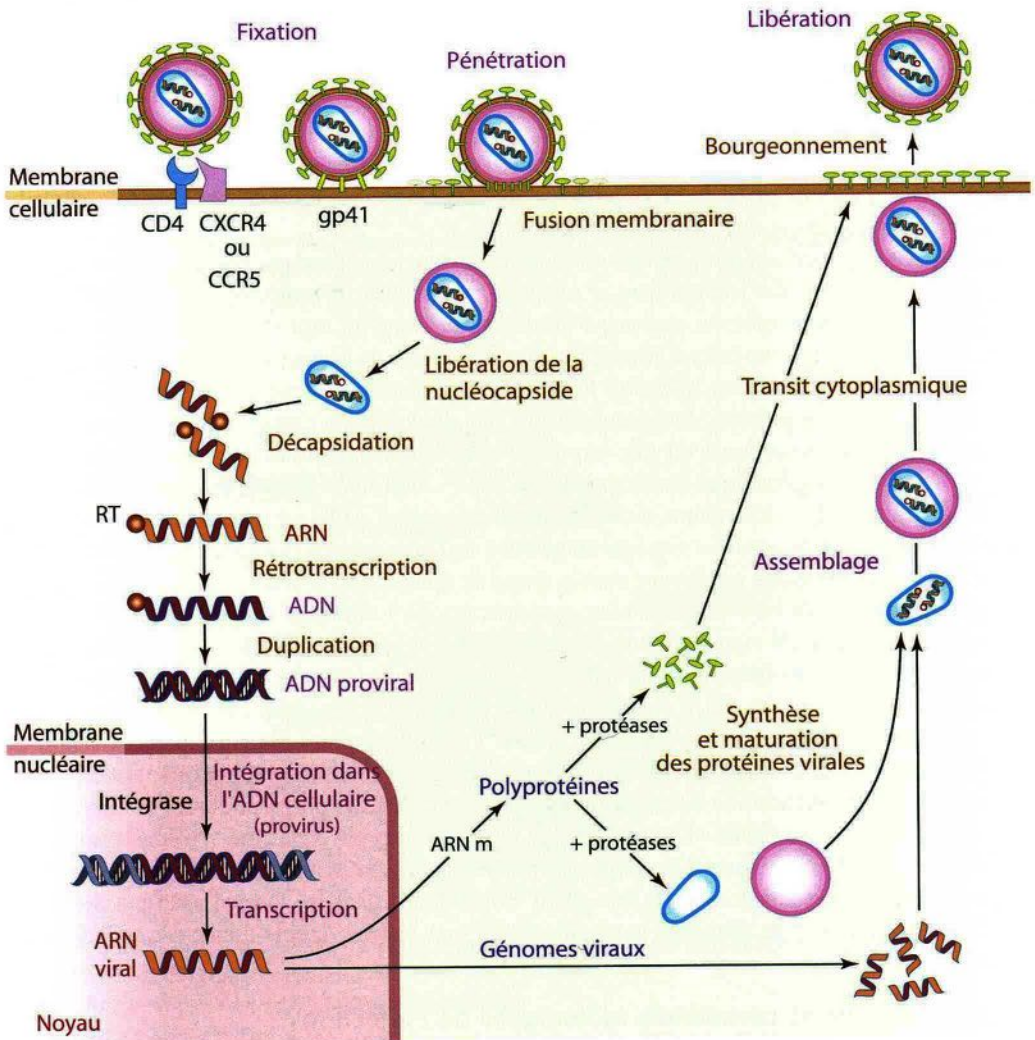
Après pénétration cytoplasmique et décapsidation, l'ARN viral libéré est rétrotranscrit en ADN par l'ADN polymérase ARN dépendante virale (rétrotranscriptase). L'ADN est ensuite dupliqué et l'ADN proviral obtenu gagne le noyau et s'intègre au génome de l'hôte grâce à l'intégrase virale. L'ADN viral intégré au génome cellulaire est désigné sous le terme de « provirus ». Une des caractéristiques des lentivirus en général, et du HIV en particulier, est leur capacité à s'intégrer au génome en l'absence de division cellulaire. L'ADN viral est ensuite transcrit en ARN par une ARN polymérase cellulaire. La protéine virale Tat active cette transcription. L'ARN associé à la protéine virale Rev est exporté vers le cytoplasme. Les transcrits d'ARN serviront d'une part d'ARN génomique et d'autre part d'ARN messagers pour la production des protéines virales. Les polyprotéines obtenues par traduction de l'ARNm subissent une étape de maturation qui permet d'obtenir les protéines fonctionnelles (Figure 1.18). Cette maturation nécessite un clivage des précurseurs polypeptidiques qui nécessite la présence de la protéase virale. L'assemblage de la nucléocapside s'effectue dans le cytoplasme. Parallèlement, les glycoprotéines d'enveloppe sont incluses dans la membrane cellulaire au niveau de radeaux lipidiques. Les nucléocapsides rejoignent la membrane dans les zones d'inclusion des glycoprotéines d'enveloppe et les nouvelles particules virales sont libérées dans le milieu extracellulaire par bourgeonnement.

Histoire naturelle et paramètres biologiques de l'infection

L'infection par le HIV est une infection chronique. La primo-infection est souvent peu symptomatique et se traduit par un syndrome pseudo-grippal ou mononucléosique. L'évolution est ensuite lente, on assiste à une phase de latence clinique au cours de laquelle la réplication virale est contrôlée par le système immunitaire. La baisse de l'immunité lente, progressive et constante au cours de l'infection conduit finalement à un état d'immunodépression qui correspond au syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) dont l'évolution est toujours fatale. La durée de la phase chronique de latence clinique entre la primo-infection et le stade SIDA est variable, elle est d'environ une dizaine d'années en l'absence de traitement.

Une faible proportion des individus infectés présente une évolution différente. Ainsi, il existe une population infectée asymptomatique non progressive à long terme (moins de 5 % des patients infectés). Ces patients sont séropositifs avec un taux d'anticorps élevé et une bonne réponse

Figure 1.19 : cycle de réplication du virus de l'immunodéficience humaine (HIV).



cytotoxique, leur virémie reste extrêmement basse et leur taux de lymphocytes T CD4 + élevé sur des périodes de plus de 10 ans. Bien qu'infectés par le HIV, ces patients ne montrent pas de signes d'évolution vers le Sida. Par ailleurs, certains individus présentent une haute résistance à l'infection et restent séronégatifs et non virémiques malgré des contacts habituellement contaminants. Plusieurs arguments sont évoqués pour expliquer ce haut degré de résistance. D'une part, des études génétiques montrent que les individus qui présentent une délétion homozygote de 32 paires de bases dans le gène de CCR5 n'expriment pas CCR5 et sont hautement résistants à l'infection par le HIV. D'autre part, l'étude de femmes prostituées en Gambie et au Kenya montre qu'environ 5 % d'entre elles sont séronégatives et non virémiques malgré des contacts sexuels non protégés

avec des partenaires infectés. Ces prostituées séronégatives et non virémiques présentent une réponse immunitaire cellulaire (T cytotoxiques) anti-HIV extrêmement puissante.

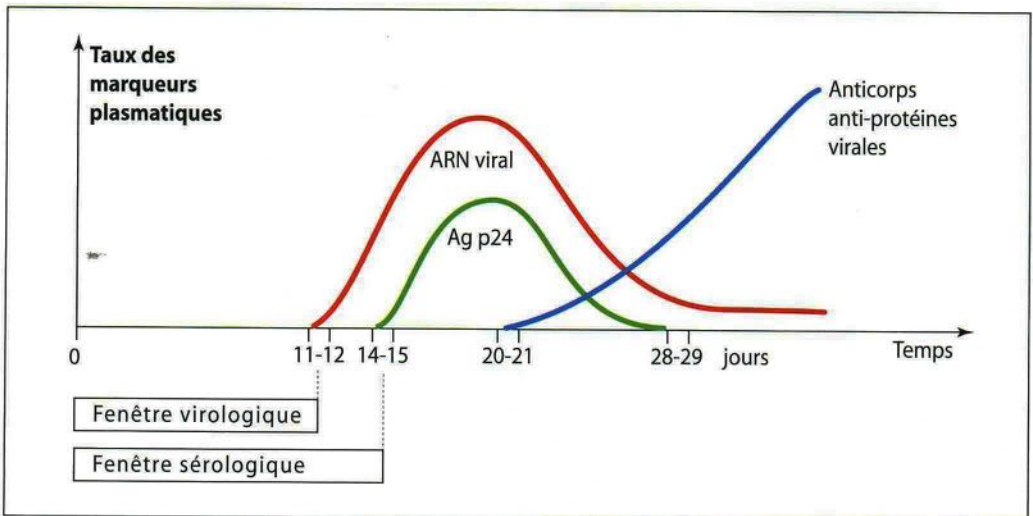
Les paramètres biologiques de l'infection sont le taux d'anticorps anti-HIV et la virémie. Au cours de la primo-infection (Figure 1.20a) on estime la fenêtre virologique à 10-12 jours et la fenêtre sérologique à environ 3 semaines. La virémie, évaluée par le taux d'ARN viral plasmatique, n'est donc détectable qu'une dizaine de jours après la contamination, elle augmente ensuite rapidement pour atteindre un niveau extrêmement élevé, puis diminue pour devenir faible, voire indétectable, après environ 1 mois. La charge virale plasmatique se stabilise à des niveaux variables selon les individus pendant la durée de la phase de latence clinique (Figure 1.20b). La remontée de la virémie signe la dégradation de l'état du système immunitaire et le passage vers le SIDA. Les anticorps anti-HIV n'apparaissent pas avant la troisième semaine, mais persistent ensuite définitivement. Dans certains cas, la séroconversion est beaucoup plus tardive et dans les cas d'accident d'exposition au sang, les directives réglementaires préconisent un intervalle de 3 mois pour établir le profil sérologique.

L'évaluation du taux de lymphocytes T CD4⁺ permet de suivre l'atteinte immunitaire. Il est couramment admis qu'en dessous de 200/mm³ de sang, le déficit en lymphocytes T CD4⁺ est important et le risque infectieux accru. La diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺ est très lente et progressive sur plusieurs années. À partir d'un seuil minimal qui peut varier d'un individu à l'autre, l'atteinte immunitaire est telle que la réplication virale n'est plus contrôlée. On assiste alors à une remontée rapide de la charge virale et à une accélération de la chute des lymphocytes TCD4⁺ (Figure 1.20b).

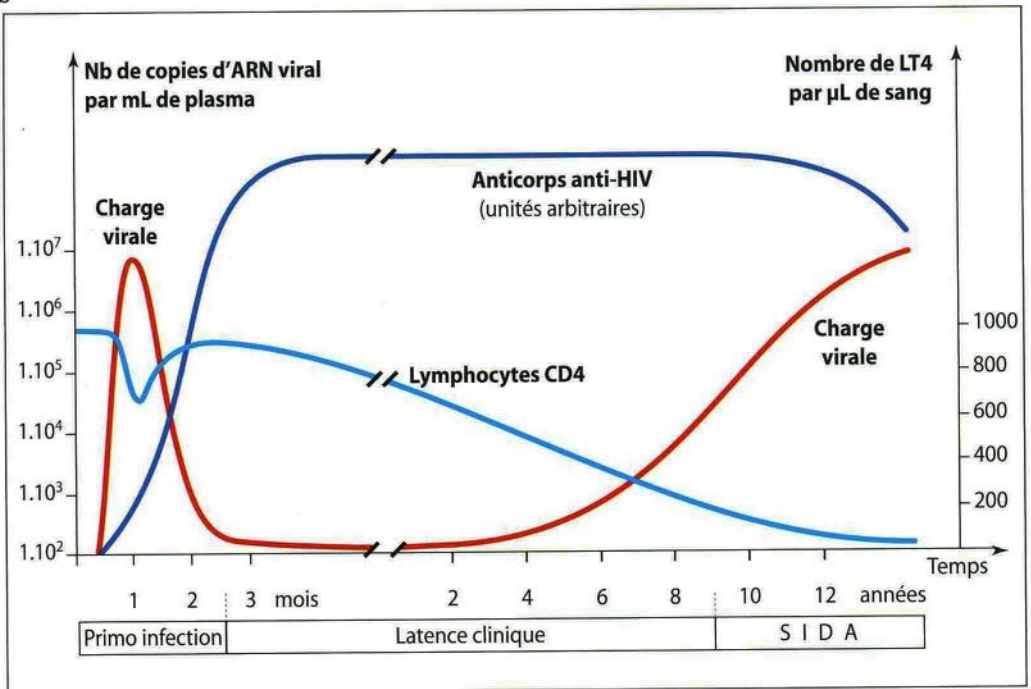
Les traitements actuels ne permettent pas d'éliminer le virus mais de prolonger la phase de latence clinique en maintenant la charge virale basse ou indétectable.

Figure 1.20 : a) Variation des marqueurs sanguins au cours de la primo-infection par le HIV; b) Évolution de quelques paramètres sanguins dans l'infection par le HIV en absence de traitement.

a



b



Modes de transmission

Le HIV se transmet par voie sanguine, sexuelle et materno-fœtale. Les mesures de contrôle systématique des dons de sang limitent le risque de contamination par transfusion qui est devenu extrêmement faible. De même, le respect des mesures habituelles de prévention permet de limiter le risque de contamination nosocomiale. Le risque de contamination professionnelle après accident d'exposition au sang est estimé à 0,32 % des accidents. L'échange de seringues entre toxicomanes est un risque majeur de contamination qui est diminué par la possibilité de se procurer plus facilement du matériel d'injection stérile.

Tout rapport sexuel non protégé est considéré comme possiblement contaminant. Pour les rapports hétérosexuels, le risque est majoré dans le sens homme → femme.

La contamination materno-fœtale peut se faire pendant la grossesse, pendant l'accouchement ou au cours de l'allaitement. Le taux de transmission de la mère à l'enfant en absence de prévention atteint 35 %. Cependant, une prévention associant un traitement antiviral de la mère pendant la grossesse, une naissance par césarienne et l'absence d'allaitement maternel réduit le risque de transmission à 1-2 %. La contamination par voie orale, notamment au cours de pratiques sexuelles orogénitales, n'est pas absolument démontrée, mais semble possible.

Épidémiologie

Les modalités de dépistage et de déclaration de l'infection par le HIV ne sont pas identiques et n'ont pas été mises en place en même temps dans tous les pays. Ainsi, une certaine prudence s'impose quant à l'interprétation des données épidémiologiques. L'ONUSIDA et l'OMS

(<http://www.unaids.org>) estiment que 520 000 à 680 000 individus seraient infectés par le HIV en Europe de l'Ouest fin 2003. Environ un cinquième des individus infectés présenterait des signes caractéristiques du stade de SIDA. En France, les estimations effectuées par l'Institut de veille sanitaire en 2003 rapportent un nombre d'individus infectés de 96 600, soit un taux de 156,7 pour 100 000 (<http://www.eurohiv.org>).

Les données concernant la population de patients atteints de SIDA en Europe de l'Ouest en juin 2003 estiment leur nombre à 107 000, avec un âge moyen de 41 ans et 22 % de femmes. Plus de la moitié d'entre eux étaient déjà séropositifs en 1996 et les modes de contamination étaient la toxicomanie intraveineuse (40 %), des rapports homosexuels (28 %) ou hétérosexuels (27 %). Cependant, si des populations à risque (homosexuels masculins, toxicomanes par voie intraveineuse) ont été bien identifiées dans la première décennie de l'infection, les mesures d'information et de prévention mises en œuvre ont fait évoluer la notion de « groupe à risque » et les données préliminaires établies en France en 2003 estiment que les deux tiers des nouvelles contaminations sont dus à des contacts hétérosexuels.

Traitement

Traitements curatifs

Les traitements antiviraux administrés aux patients séropositifs ne permettent pas d'éliminer le virus, mais ils ont pour objectifs de maintenir une charge virale basse et un taux de lymphocytes T CD4 + supérieur à 200/mm³.

Il existe quatre catégories de molécules utilisées qui agissent sur trois étapes du cycle de réplication. Les inhibiteurs nucléosidiques et non nucléosidiques de la rétrotranscriptase agissent sur la transcription de l'ARN viral en ADN proviral. Les inhibiteurs de protéases agissent sur la protéase virale et inhibent l'étape de maturation des protéines. L'inhibiteur de fusion se fixe sur gp41 et empêche la pénétration du virus dans la cellule par inhibition de la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire (Tableau 1.14). Ces médicaments antiviraux sont toujours prescrits en association afin de limiter le risque d'apparition de résistances. Les associations peuvent concerner plusieurs principes actifs d'une même catégorie ou associer des principes actifs de catégories différentes. Ainsi, généralement, la bithérapie associe deux analogues nucléosidiques et la trithérapie ajoute à la bithérapie un inhibiteur de protéase. Cette trithérapie peut faire suite à une bithérapie ou être donnée d'emblée. Le nouveau principe actif inhibiteur de fusion est utilisé en association avec d'autres anti-rétroviraux face à un échec des traitements plus conventionnels.

Le moment où doit être mis en place un traitement n'est pas absolument déterminé. En règle générale, on estime que le traitement doit débiter quand la réplication virale n'est plus contrôlée par le système immunitaire, c'est-à-dire lorsque la charge virale monte et que le taux de lymphocytes T CD4 + chute. En France, le groupe d'experts recommande la mise en place d'un traitement dans les conditions suivantes :

- lorsque la charge virale plasmatique est supérieure à 30 000 copies/mL pour un taux de lymphocytes T CD4 + supérieur à 500/mm³ ;
- lorsque la charge virale est supérieure à 10 000 copies/mL pour un taux de CD4 + entre 350 et 500/mm³ ;
- ou lorsque le taux de T CD4 + est inférieur à 350/mm³.

Le traitement doit être modifié en cas d'échec ou d'intolérance. L'échec se définit par une insuffisance de normalisation des paramètres biologiques ou lorsque ceux-ci redeviennent inquiétants après

Tableau 1.14 : antiviraux actifs sur le HIV.

1- Inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques de la rétrotranscriptase	
Principe actif	Nom de spécialité
Abacavir	Ziagen®
Didanosine (ddI)	Videx®
Lamivudine (3TC)	Epivir®, Zeffix®
Stavudine (d4T)	Zerit®
Zalcitabine (ddC)	Hivid®
Zidovudine (AZT)	Retrovir®
<i>Associations de principes actifs</i>	
Abacavir+ Lamivudine+Zidovudine	Trizivir®
Lamivudine+Zidovudine	Combivir®
2- Inhibiteurs non-nucléosidiques de la rétrotranscriptase	
Principe actif	Nom de spécialité
Efavirenz	Sustiva®
Nevirapine	Viramune®
3- Inhibiteurs de protéases	
Principe actif	Nom de spécialité
Amprénavir	Agénérase®
Indinavir	Crixivan®
Nelfinavir	Viracept®
Ritonavir	Norvir®
Saquinavir	Invirase®, Fortovase®
<i>Associations de principes actifs</i>	
Lopinavir+Ritonavir	Kaletra®
4- Inhibiteurs de fusion	
Principe actif	Nom de spécialité
Enfuvirtide	Fuzeon®

une normalisation initiale (remontée de la charge virale sous traitement). Ce deuxième cas signe généralement l'apparition d'une résistance.

Les trithérapies permettraient d'obtenir une réduction de 80 % de la mortalité et de 85 % des infections opportunistes. Ces trithérapies sont habituellement citées dans la littérature anglo-saxonne sous le sigle « HAART » (*Highly Active AntiRetroviral Therapy*). Cependant, cette avancée thérapeutique remarquable doit être tempérée par le fait que ces traitements sont des traitements au long cours qui sont associés à des effets secondaires non négligeables, et que l'apparition de résistances est une complication toujours à craindre. Ainsi, le développement de nouveaux médicaments et, en particulier la recherche de molécules ayant pour cibles d'autres étapes du cycle de réplication viral (entrée des virions, exportation vers le noyau et intégration dans le génome cellulaire, bourgeonnement...) est un enjeu permanent qui mobilise de nombreuses équipes de recherche.

Traitements préventifs

La conduite à tenir pour la prophylaxie d'une contamination par le HIV en cas d'accident avec exposition au sang ou à un autre liquide biologique chez les professionnels de santé a été décrite dans la

note n° 666, DGS/DH/DRT du 28 octobre 1996. Les recommandations des groupes d'experts, publiés par le secrétariat d'état à la santé selon l'état des connaissances en octobre 1997, insistent sur les faits suivants :

- si l'évaluation du risque conduit à proposer un traitement prophylactique, celui-ci doit débiter le plus rapidement possible après l'accident et durer 4 semaines ;
- le choix du traitement sera fait au cas par cas en tenant compte des critères de gravité, du traitement reçu par le patient source, de l'acceptabilité du traitement par la personne exposée et des risques d'effets secondaires ;
- l'association de deux inhibiteurs nucléosidiques et d'un inhibiteur de protéases semble être considérée en priorité puisque c'est la plus puissante. Cependant, un ensemble d'arguments incite à prescrire l'association de deux inhibiteurs nucléosidiques sans inhibiteurs de protéases.

Le traitement préventif de contamination de l'enfant d'une mère séropositive associe un traitement antiviral de la mère afin de diminuer les charges virales plasmatique et génitale, un accouchement programmé par césarienne sous traitement antiviral et l'absence d'allaitement maternel.

Vaccination

La mise au point d'un vaccin protecteur est le moyen le plus sûr de prévenir une infection virale. Depuis une vingtaine d'années, la mise au point d'un vaccin contre le HIV est un défi qui se heurte à un certain nombre de difficultés. Les essais d'induction d'anticorps anti-protéines d'enveloppe n'ont pas permis de mettre en évidence une réponse anticorps neutralisante. La variabilité mutationnelle, le masquage de certains épitopes et les changements de conformation des molécules lors de leur interaction avec les récepteurs cellulaires peuvent probablement expliquer partiellement ces difficultés. D'autres travaux montrent l'importance de la réponse T cytotoxique dans la phase initiale de contrôle de la virémie et les recherches actuelles se sont orientées vers des vaccins stimulant la réponse cellulaire. Ainsi, de nombreux essais chez l'animal évaluent l'efficacité de vaccins recombinants avec vecteurs viraux. Différentes protéines du HIV et différents vecteurs sont actuellement à l'étude. Les principaux essais utilisent comme vecteur des souches de virus de la vaccine atténué (Poxvirus) ou d'autres Pox animaux, mais d'autres vecteurs sont également étudiés (adénovirus défectifs, poliovirus, virus rabique, virus de la rougeole, de la fièvre jaune, de la stomatite vésiculeuse...). De l'ADN nu ou des combinaisons ADN nu/vecteur viral recombinant sont également étudiés. Tous ces vaccins induisent chez l'animal une réponse immunitaire avec production de lymphocytes T cytotoxiques capables de maintenir une charge virale basse, nettement en dessous de la charge habituelle, mais ils ne permettent pas de prévenir l'infection. Ces vaccins seraient donc développés plutôt pour maintenir un état asymptomatique à long terme que pour prévenir la contamination. Il faut attendre les résultats des essais cliniques effectués chez l'homme, mais il est probable que la combinaison de fractions vaccinales permettant d'obtenir à la fois une réponse humorale et une réponse cellulaire serait souhaitable et nécessaire à la neutralisation et à l'élimination des virus.

Une autre voie d'investigation est la mise au point de vaccins muqueux. En effet, dans la majorité des cas, le HIV est transmis par une voie muqueuse (rectale, vaginale) et il a été montré qu'une immunité muqueuse puissante pouvait limiter la contamination. L'immunité muqueuse est stimulée par des voies différentes de celles de l'immunité systémique (§ Exclusion immune) et des essais de vaccination muqueuse par voie orale, rectale ou vaginale utilisant différentes fractions protéiques du HIV et différents adjuvants sont actuellement en cours d'étude.

Les virus responsables d'hépatites

Différents virus sont responsables de maladies hépatiques. En fonction du mode de contamination et de la physiopathologie de l'infection, on distingue deux grandes catégories de virus : les virus à transmission entérale dont l'infection se traduit généralement par une phase aiguë, ictérique, qui guérit sans séquelles, et les virus à transmission parentérale dont la primo-infection peut être asymptomatique mais conduit à une infection chronique dans un certain pourcentage de cas. Les virus transmis par voie entérale sont le virus de l'hépatite A (HAV) et le virus de l'hépatite E (HEV). Les virus à transmission parentérale sont le virus de l'hépatite B (HBV) et le virus de l'hépatite C (HCV), auxquels il faut ajouter le provirus delta (HDV).

Les hépatites virales à transmission parentérale avaient été regroupées sous le terme d'« hépatites post-transfusionnelles ». Cette appellation n'est plus d'actualité pour les virus HBV et HCV depuis l'établissement du contrôle systématique des dons de sang. Il reste toutefois une faible proportion de maladies hépatiques post-transfusionnelles qui suggèrent l'existence d'autres virus responsables d'hépatites.

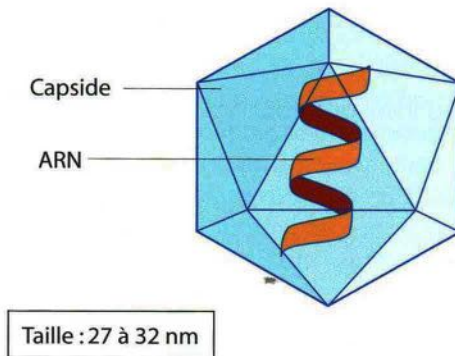
Le virus de l'hépatite A (HAV)

Caractéristiques virologiques

Le virus de l'hépatite A appartient à la famille des *Picornaviridae*, genre *Hépatovirus*. C'est un virus nu dont la particule mesure 28 nm de diamètre (Figure 1.21). Sa capsid possède une symétrie icosaédrique et son acide nucléique est un ARN simple brin de polarité positive de 7,5 kb.

Le HAV est extrêmement résistant et peut survivre de manière prolongée dans le milieu extérieur. Il résiste à des températures élevées (une heure à 60°C) et son inactivation nécessite un chauffage à 100°C pendant 5 minutes.

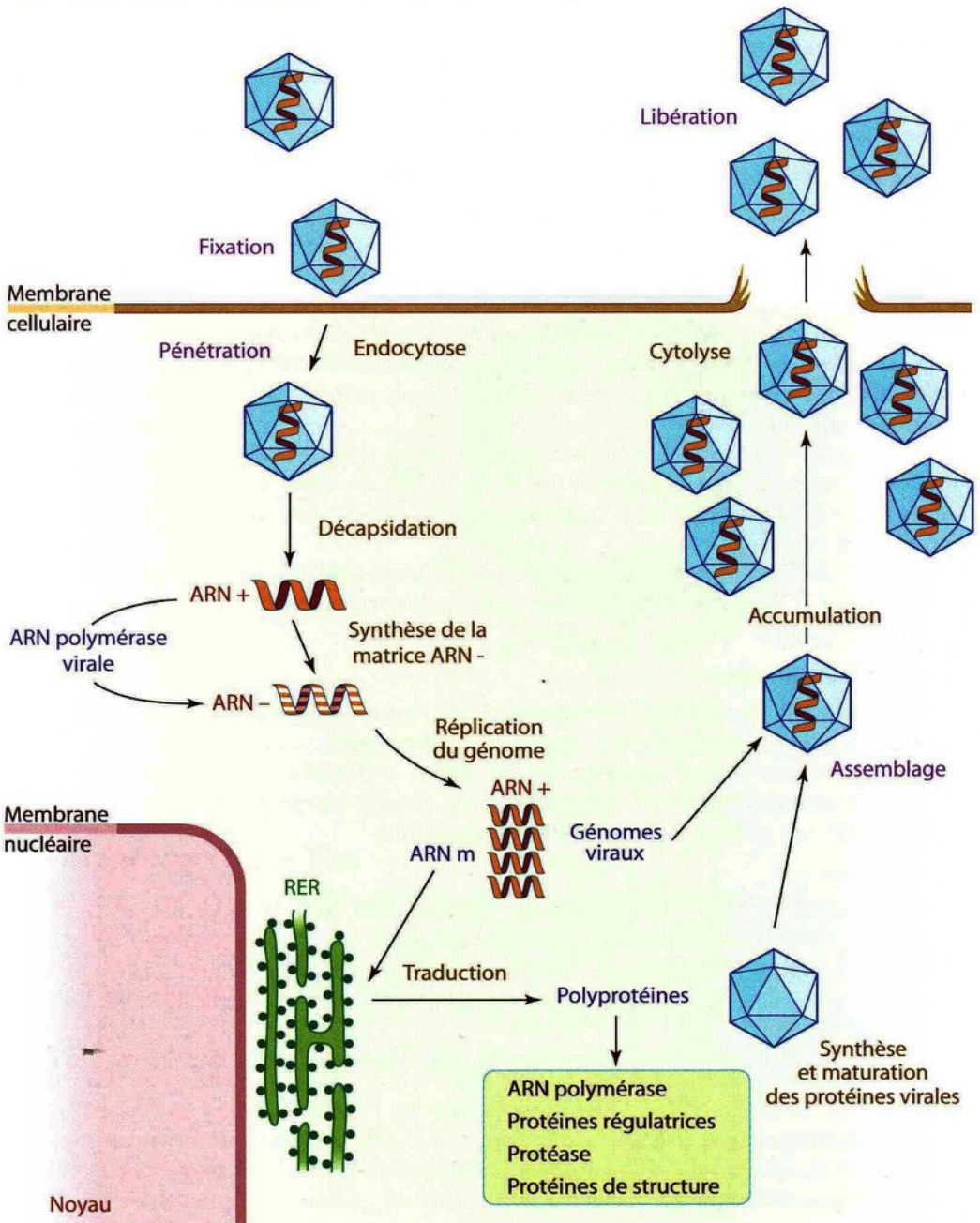
Figure 1.21 : représentation schématique du virus de l'hépatite A (HAV).



Cycle de répllication (Figure 1.22)

In vivo, le HAV se réplique dans les hépatocytes et les cellules épithéliales du tractus gastro-intestinal. L'infection semble suivre un cycle entéro-hépatique. Après ingestion d'aliment contaminé, le virus pénètre dans l'organisme par les cellules épithéliales de l'estomac ou de l'intestin où il peut commencer à se répliquer. Il est ensuite transmis aux hépatocytes qui le répliquent activement. Les nouvelles particules virales produites sont libérées dans la bile et excrétées dans les selles ou réabsorbées.

Figure 1.22 : cycle de réplication du virus de l'hépatite A.



Le HAV pénètre dans la cellule cible par endocytose et se réplique dans le cytoplasme. Après décap-sidation, l'ARN viral est traduit en protéines et répliqué. La traduction de l'ARN génomique conduit à une polyprotéine qui est clivée pour donner les protéines de capsid, une protéase virale et une ARN polymérase ARN-dépendante (réplicase). La réplication passe par la synthèse d'un brin d'ARN-, complémentaire de l'ARN génomique, qui sert de matrice de réplication. Après assemblage des nucléocapsides, les nouveaux virions s'accumulent dans le cytoplasme et sont libérés par lyse cellulaire.

Histoire naturelle et paramètres biologiques de l'infection

L'importance de la maladie est corrélée à l'âge de l'individu infecté : l'hépatite A est asymptomatique ou anictérique chez plus de 90 % des enfants infectés avant l'âge de 5 ans, alors que 50 à 75 % des adultes infectés développeront un ictère. Dans les zones endémiques, la primo-infection se fait généralement dans la petite enfance, elle est asymptomatique et confère une immunité persistante jusqu'à l'âge adulte, peu de cas d'ictères sont donc observés. Dans les pays développés, l'amélioration des conditions d'hygiène limite les risques, très peu d'individus sont infectés dans l'enfance et les adultes restent donc susceptibles à l'infection par le HAV. En cas de primo-infection, les adultes développeront fréquemment un ictère.

Les symptômes de la phase aiguë sont identiques à ceux des autres hépatites, le diagnostic nécessite donc la détection sérologique d'anticorps anti-HAV. La période d'incubation est de 2 à 4 semaines et, dans la grande majorité des cas, il s'agit d'une maladie bénigne auto-limitée. La maladie n'évolue pas vers la chronicité.

Les paramètres biologiques recherchés sont le taux d'anticorps anti-HAV et le taux d'alanine aminotransférase (ALAT). La présence des anticorps signe l'infection virale et le taux d'ALAT est un reflet de l'atteinte hépatique.

Modes de transmission

Le HAV est transmis par voie fécale-orale, les principaux vecteurs de contamination seront donc l'eau, les aliments souillés et le contact direct avec une personne infectée.

La virémie est précoce (avant l'apparition des symptômes) et transitoire ; elle peut durer une à deux semaines. La transmission par voie sanguine est donc possible lorsque la virémie est présente, elle reste cependant rare puisque la période virémique est limitée.

Épidémiologie

La séroprévalence du HAV est extrêmement variable selon la zone géographique considérée. Extrêmement élevée dans les zones endémiques, elle reste faible dans les pays développés où les conditions d'hygiène sont élevées. En Europe, la séroprévalence varie considérablement selon le pays et le niveau socio-économique (par exemple : de 2 % en Scandinavie ou 5 % en Italie du Nord, elle est de 27 % en Italie du Sud).

En cas de voyage dans une zone endémique, le risque de contamination peut être prévenu par la vaccination.

Le virus de l'hépatite B (HBV)

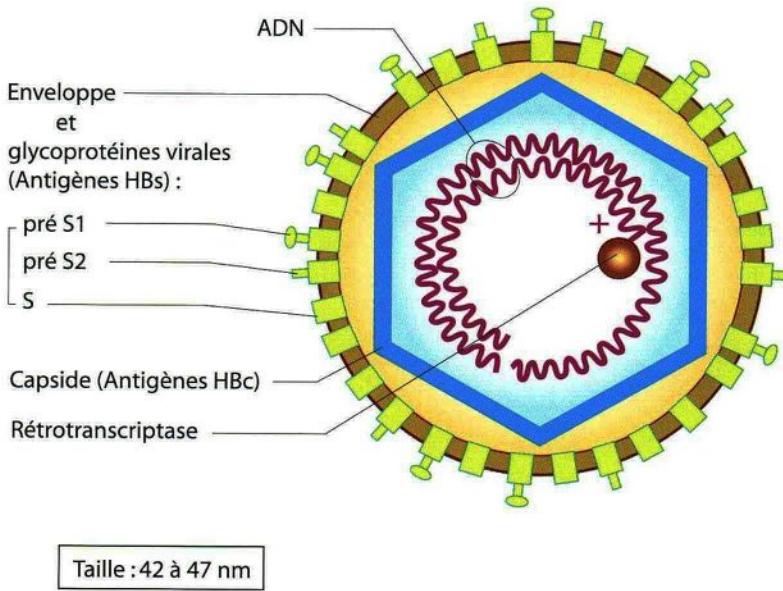
Caractéristiques virologiques

Le virus de l'hépatite B appartient à la famille des *Hepadnaviridae* genre *Orthohepadnavirus*. C'est un virus enveloppé dont la particule mesure 42 nm de diamètre (Figure 1.23). La symétrie de capsid est icosaédrique et l'acide nucléique est un ADN double brin circulaire partiel d'environ 3 kb. Le génome du HBV est un très petit génome qui code pour un nombre restreint de protéines : la gly-

coprotéine d'enveloppe sous ses trois formes (courte (S), moyenne (S + pré S2) et longue (S + pré S2 + pré S1)), la protéine de capside, la rétrotranscriptase (RT) et une protéine X dont le rôle n'est pas connu.

On distingue 7 géotypes majeurs (A à G) de HBV.

Figure 1.23 : représentation schématique du virus de l'hépatite B (HBV).

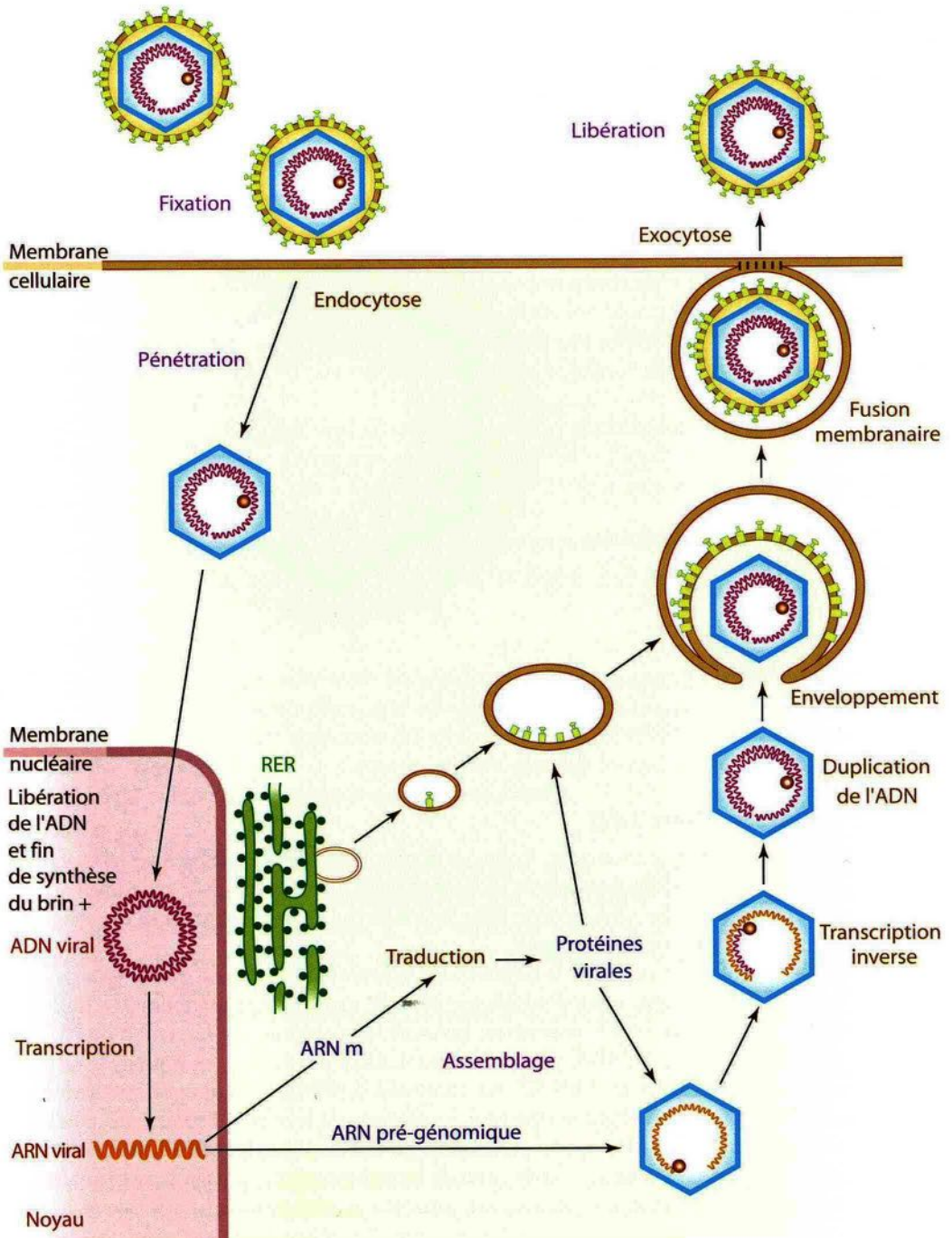


Cycle de réplication (Figure 1.24)

Le HBV se réplique dans les hépatocytes. Certaines études suggèrent que des cellules extra-hépatiques pourraient répliquer le virus, notamment les lymphocytes, mais l'importance de cette réplication extra-hépatique est discutée. Le virus pénètre dans la cellule par endocytose, mais le récepteur permettant la fixation du virus n'est pas identifié.

L'ADN circulaire double brin va gagner le noyau où est achevée la synthèse du second brin d'ADN. La molécule d'ADN double brin super-enroulée sert alors de matrice de transcription. La transcription de l'ARN est réalisée par l'ARN polymérase cellulaire, elle conduit à la formation de l'ARNm codant les protéines virales et à l'ARN pré-génomique. L'ARN pré-génomique s'associe à la rétrotranscriptase virale, et le complexe ARN-RT est encapsidé. L'ARN est ensuite rétrotranscrit pour conduire au brin négatif de l'ADN génomique viral. La synthèse du brin positif complémentaire commence, la maturation de la nucléocapside se termine par un bourgeonnement dans le réticulum endoplasmique. La synthèse du brin + s'arrête avec le bourgeonnement, le brin + est généralement incomplet et peut avoir une longueur variable. Les particules enveloppées sont transférées dans l'appareil de Golgi où s'effectue la glycosylation des protéines d'enveloppe. Les particules sont ensuite libérées par exocytose et excrétées dans le sang.

Figure 1.24 : cycle de réplication du virus de l'hépatite B.

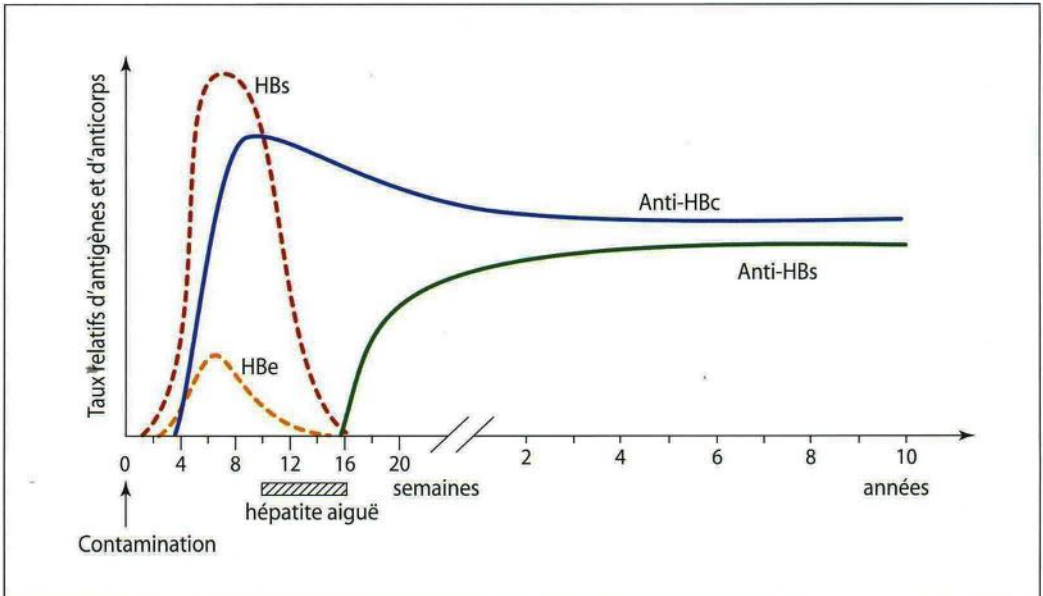


Histoire naturelle et paramètres biologiques de l'infection

La primo-infection par le HBV est asymptomatique dans 90 % des cas et donne une infection aiguë symptomatique dans 10 % des cas. L'hépatite aiguë symptomatique ressemble aux autres hépatites virales. La durée d'incubation est de 10 semaines en moyenne, elle est suivie d'une phase pré-ictérique de 3 à 7 jours, puis de la phase ictérique qui dure 2 à 3 semaines. En moyenne, 90 % des patients infectés guérissent sans séquelles et acquièrent une immunité active, alors que les 10 % restants deviennent porteurs chroniques. Parmi les porteurs chroniques, 30 % sont considérés comme des porteurs sains, potentiellement contaminants mais sans atteinte hépatique évolutive, et 70 % développent une hépatite chronique. L'hépatite chronique active peut évoluer vers une cirrhose et un carcinome hépatocellulaire. Le risque de passage à la chronicité varie considérablement selon l'âge : il est de 90 % lorsque la primo-infection a lieu avant l'âge de 1 an, de 30 % entre 1 et 5 ans, et passe à environ 2-5 % chez l'adulte et les enfants de plus de 5 ans.

Les paramètres biologiques recherchés sont les anticorps anti-HBs et anti-HBc, et la virémie évaluée par le taux des antigènes HBs et HBe. Une infection autolimitée est caractérisée par une virémie transitoire qui précède l'atteinte hépatique aiguë et régresse avec l'apparition des anticorps (Figure 1.25). Les anticorps persistent pendant des années et confèrent une immunité protectrice. L'état de porteur chronique est classiquement défini par la persistance de l'antigène HBs au-delà de 6 mois. La présence de l'antigène HBe dans le sérum atteste d'une multiplication active du virus. L'élévation des transaminases signe l'atteinte hépatique, elle peut atteindre 10 à 100 fois les valeurs normales dans la phase aiguë.

Figure 1.25 : évolution de marqueurs plasmatiques dans l'infection aiguë auto-limitée provoquée par HBV.



Modes de transmission

Les tissus qui présentent la plus forte concentration de virions sont le foie et le sang. Cependant, de plus faibles concentrations de particules virales sont retrouvées dans la salive, le sperme et de nombreuses sécrétions.

La transmission se fera donc par voie sanguine, sexuelle, salivaire et materno-fœtale.

Les mesures préventives de contrôle systématique des dons de sang limitent considérablement le risque de transmission par des produits sanguins. Les mesures classiques de stérilisation éliminent le HBV. Le respect des mesures habituelles de prévention permet donc de limiter le risque de transmission nosocomiale. Le principal risque de transmission sanguine reste donc le partage des seringues lors de pratiques de toxicomanie intraveineuse.

L'existence de plusieurs vaccins efficaces doit permettre de prévenir la contamination par ce virus.

Épidémiologie

Selon un rapport de l'OMS de 1996, un tiers de la population mondiale aurait été infecté par le HBV et environ 5 % présenteraient une infection chronique. L'existence de vaccins efficaces devrait diminuer considérablement ces chiffres. En 2001, la mortalité annuelle due à l'infection par le HBV ou ses conséquences était estimée à 1 à 2 millions d'individus dans le monde.

En France en 1996, on estimait la prévalence de l'infection chronique à HBV à 0,3 %. Les professionnels de santé ne constituent plus un groupe à risque depuis l'obligation de vaccination.

Traitement

Seules les formes chroniques d'infection par le HBV font l'objet d'un traitement antiviral. Le cycle de réplication du HBV possède une étape de rétrotranscription dépendante d'une ADN polymérase virale qui sera la cible préférentielle des antiviraux. Ainsi, une molécule comme la lamivudine, analogue nucléosidique utilisé dans les cas d'infections par le HIV, sera indiquée pour le traitement d'une hépatite B chronique. Un analogue nucléotidique, l'adéfovir dipivoxil (Hepsera®) est également utilisé pour traiter les infections à *Hepadnaviridae*. Ces analogues nucléosidiques ou nucléotidiques sont utilisés en association avec de l'interféron α , afin de limiter l'émergence de résistances.

Vaccins

L'existence de vaccins anti-HBV efficaces doit permettre de limiter l'infection par ce virus et réduire l'incidence des hépatites B chroniques. En France, la vaccination contre le virus de l'hépatite B est obligatoire pour les populations à risque, notamment les personnels de santé.

Les vaccins sont constitués d'antigènes HBs recombinants obtenus par génie génétique chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* pour le vaccin Engerix-B® (SmithKline-Beecham) ou dans des cellules CHO (*Chinese Hamster Ovary cells*) pour le GenHevacB® (Aventis Pasteur).

Le virus de l'hépatite C (HCV)

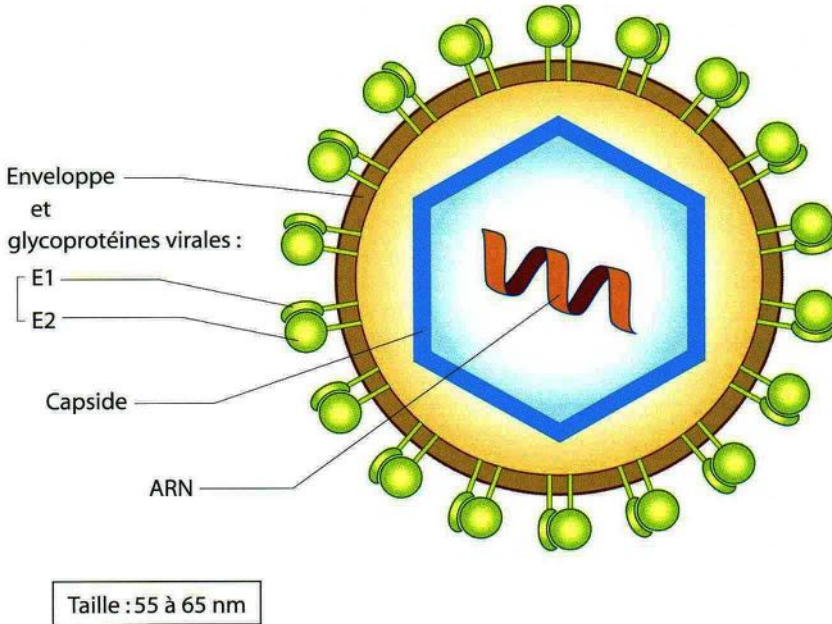
Caractéristiques virologiques

Le virus de l'hépatite C appartient à la famille des *Flaviviridae*, genre *Hepacivirus*. C'est un virus enveloppé dont la particule mesure de 55 à 65 nm de diamètre (Figure 1.26). La symétrie de capsid est icosaédrique et l'acide nucléique est un ARN simple brin de polarité positive, d'environ 9,6 kb.

Six génotypes principaux de HCV ont été identifiés dans le monde, ils présentent une variation de 31 à 34 % de leurs séquences nucléotidiques et d'environ 30 % de leurs séquences en acides aminés. Le génome du HCV possède un cadre de lecture ouvert codant les protéines de structure (protéines de capsid et d'enveloppe), le peptide membranaire p7 et les protéines non structurales (NS2, NS3,

NS4A, NS4B, NS5A, NS5B). Le cadre de lecture ouvert est entouré de deux régions non codantes, l'une en 5' et l'autre en 3'.

Figure 1.26 : représentation schématique du virus de l'hépatite C (HCV).



Les principales cellules cibles du HCV sont les hépatocytes, mais il est admis que le HCV peut également se répliquer dans certaines sous-populations de lymphocytes B et dans les cellules dendritiques.

Cycle de réplication

Faute d'un modèle de culture cellulaire adéquat, le cycle de réplication du HCV reste mal connu. Les descriptions actuelles sont établies par analogie avec les autres *Flaviviridae* et étayées par les connaissances de la structure des protéines virales.

La fixation du HCV sur ses cibles cellulaires fait très vraisemblablement intervenir les glycoprotéines d'enveloppe du virus. En interagissant avec différentes molécules membranaires formant un complexe récepteur à la surface de la cellule cible, les protéines d'enveloppe permettraient la fixation de la particule virale puis sa pénétration par endocytose. Différentes molécules candidates sont impliquées dans la formation du complexe récepteur des cellules cibles : le récepteur des LDL, la molécule CD81, des glycosaminoglycanes et des lectines liant le mannose (DC-SIGN, L-SIGN). L'infection préférentielle de tel ou tel type cellulaire par différents variants du HCV au sein d'un même individu pourrait dépendre à la fois de variations de séquences en acides aminés des protéines d'enveloppe, mais aussi de certaines spécificités moléculaires exprimées à la surface des cellules cibles.

Après endocytose, l'enveloppe virale est capable de fusionner avec la membrane de l'endosome, libérant la nucléocapside dans le cytoplasme. La décapsidation permet ensuite de libérer l'ARN du HCV qui servira de messenger pour la synthèse des protéines.

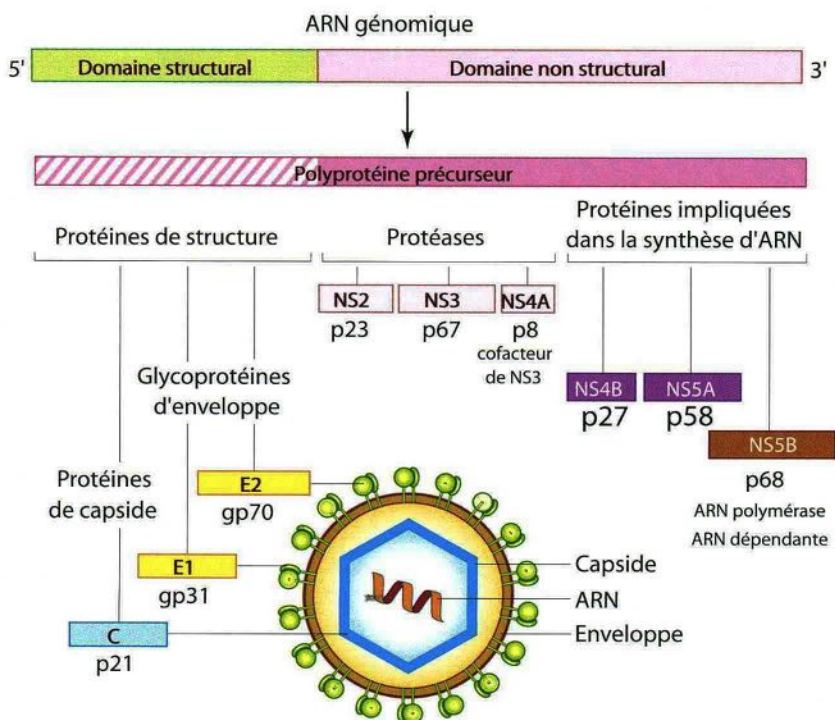
La traduction du cadre de lecture ouvert de l'ARN du HCV donne une polyprotéine qui doit subir une maturation pour aboutir aux protéines de structure, au peptide p7 et aux protéines non structurales (Figure 1.27). Cette maturation est sous la dépendance d'enzymes cellulaires et virales (protéases notamment).

La réplication de l'ARN viral passe par la synthèse d'une matrice d'ARN complémentaire de l'ARN génomique. Cette matrice d'ARN, de polarité négative, permet la synthèse de nombreux brins d'ARN de polarité positive qui serviront d'ARN génomiques ou d'ARN messagers. La réplication du génome du HCV se fait au sein d'un complexe de réplication formé par l'association de protéines cellulaires avec les protéines non structurales du HCV, parmi lesquelles on trouve une ARN polymérase ARN dépendante (NS5B).

Les protéines de capside matures vont s'associer à des brins d'ARN génomiques pour former de nouvelles nucléocapsides.

D'après ce qui a été décrit pour d'autres virus de la même famille, les nucléocapsides seraient enveloppées à partir de la membrane du réticulum endoplasmique et libérées par exocytose.

Figure 1.27 : organisation et expression du génome du HCV.



Histoire naturelle et paramètres biologiques de l'infection

La primo-infection par le virus de l'hépatite C entraîne une hépatite aiguë cliniquement symptomatique dans un tiers des cas environ. Les symptômes apparaissent entre la cinquième et la douzième semaine après l'infection, ils suivent l'élévation du taux d'alanine aminotransférase (ALAT) et géné-

ralement régressent avec lui. Les anticorps anti-HCV apparaissent environ 6 semaines après la contamination. La diminution du taux d'ALAT et la régression des symptômes s'observent après l'apparition des anticorps. La primo-infection guérit spontanément dans 20 à 50 % des cas et évolue vers une hépatite chronique dans 50 à 80 % des cas. Un suivi sur 20 à 30 ans montre que l'hépatite chronique reste stable dans 80 % des cas, et évolue vers la cirrhose dans les 20 % de cas restants. La cirrhose évolue vers un carcinome hépatocellulaire avec une incidence de 1 à 4 % par an.

Les paramètres biologiques qui permettent de suivre l'infection sont le taux d'anticorps anti-HCV et la virémie évaluée par la charge plasmatique en ARN viral.

Chez un patient infecté et guéri, seuls les anticorps sont présents. Le porteur chronique est identifié par la persistance de la virémie.

D'autres paramètres biologiques tels que le taux d'ALAT permettent d'évaluer l'état de l'atteinte hépatique, ils ne sont pas spécifiques de l'infection virale mais permettent d'en évaluer les conséquences.

Modes de transmission

Le virus de l'hépatite C se transmet principalement par le sang. Depuis le début des années quatre-vingt-dix, les différents contrôles effectués sur les dons de sang ont considérablement réduit le risque de survenue d'une hépatite post-transfusionnelle. On considère qu'en 1999, le risque résiduel de contracter une hépatite C après transfusion était de 1 sur 515 000. Depuis l'instauration du contrôle génomique systématique des dons de sang en juillet 2001, ce risque devrait être encore réduit puisque ce contrôle permet de détecter l'infection avant la séroconversion. Le risque de transmission nosocomiale est aussi extrêmement limité si les procédures classiques de prévention sont observées. Ainsi, dans les pays développés, 60 à 70 % des nouveaux cas de contamination sont dus à la toxicomanie intraveineuse.

Le risque professionnel de contamination après accident d'exposition au sang est d'environ 3 à 5 %, mais pourrait atteindre 10 % en cas de virémie élevée. Cependant, ce risque semble limité dans la mesure où la prévalence de l'infection par le HCV chez les professionnels de santé n'est pas différente de celle de la population générale.

La transmission par voie sexuelle n'est pas démontrée. Le HCV est présent dans le sang menstruel, mais absent des sécrétions vaginales et inconstant dans le sperme. Lorsqu'il est retrouvé dans le sperme, c'est en quantité 10 à 100 fois plus faible que dans le sang. La contamination sexuelle reste donc vraisemblablement limitée.

La transmission intrafamiliale est un mode mineur de contamination. Elle peut être due au partage d'objets de toilette susceptibles d'être contaminés par du sang, le risque en serait donc augmenté par des conditions d'hygiène défavorables.

La transmission de la mère à l'enfant est démontrée, mais le risque reste relativement faible, estimé entre 5 et 10 % selon la virémie maternelle. Ce risque est considérablement augmenté, atteignant 20 à 30 %, en cas de co-infection par le HIV.

Dans 20 % des cas, le mode de transmission n'est pas établi.

Épidémiologie

On estime que la prévalence de l'infection par le HCV dans le monde est d'environ 3 %, soit environ 170 millions d'individus infectés. Elle est estimée en France à 1,1 % d'après des études datant de 1994. On estime qu'en France entre 500 000 et 600 000 individus auraient été infectés par le HCV et que 80 % d'entre eux seraient virémiques.

Traitement

Hépatite aiguë

Le diagnostic d'hépatite aiguë C n'est pas toujours facile à poser car elle est asymptomatique dans deux cas sur trois et qu'une phase symptomatique peut correspondre à l'exacerbation d'une hépatite chronique. Le diagnostic est obtenu lorsque la contamination est suspectée et donc le patient suivi, ou en cas de symptomatologie ictérique lorsque l'ARN du HCV est détectable et que les anticorps ne sont pas encore présents.

La prescription d'un traitement antiviral en cas d'hépatite C aiguë a pour but d'éviter le passage à la chronicité. Une conférence de consensus française datant de 2002 a établi les règles suivantes :

- les malades asymptomatiques doivent être systématiquement traités;
- les malades symptomatiques ne doivent être traités que lorsque le taux d'ARN viral plasmatique reste détectable 12 semaines après la contamination.

L'hépatite aiguë C se traite par l'IFN α .

Hépatite chronique

Les objectifs du traitement d'une hépatite C chronique sont variés. L'objectif principal est l'élimination du virus, mais le traitement peut également être indiqué pour réduire l'activité virale, limiter la progression de l'atteinte hépatique et prévenir les complications. L'efficacité du traitement s'évalue par la normalisation prolongée des paramètres biologiques hépatiques (taux d'ALAT) et viraux (taux d'ARN viral plasmatique). La réponse au traitement est dite prolongée lorsqu'elle persiste 24 semaines après l'arrêt du traitement.

Le traitement de l'hépatite chronique C est une bithérapie qui associe de l'IFN et de la ribavirine. L'IFN présente une demi-vie plasmatique courte (4 heures), il sera utilisé sous la forme d'IFN pégylé (PEG-IFN), c'est-à-dire associé à une molécule de polyéthylène glycol, ce qui prolonge sa demi-vie. L'efficacité du traitement PEG-IFN + ribavirine dépend essentiellement du génotype du HCV. Ce traitement suivi pendant 24 semaines permet d'éradiquer l'infection dans la grande majorité des cas lorsqu'il s'agit d'une infection par un génotype 2 ou 3. Par contre, elle est inefficace chez plus de 50 % des malades infectés par un autre génotype, même lorsque les doses et la durée du traitement sont augmentées.

Le virus de l'hépatite Delta (HDV)

Caractéristiques virologiques

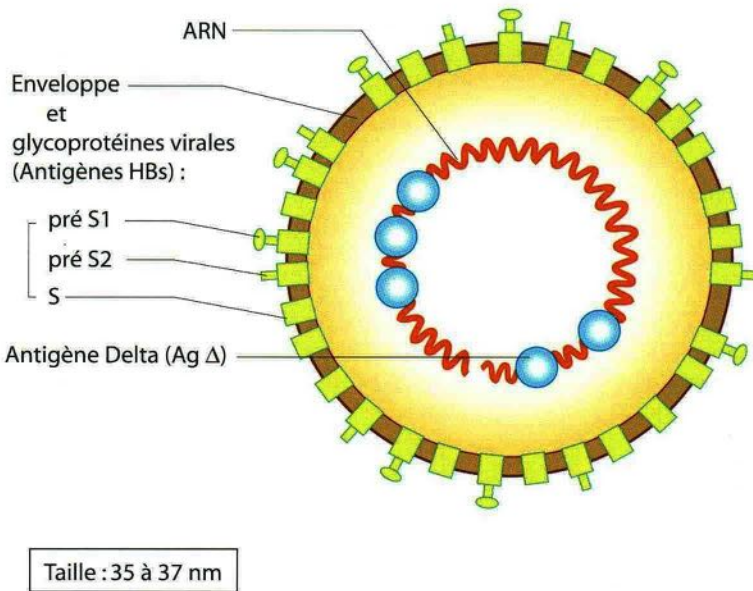
L'agent delta (HDV) est un virus défectif qui ne se réplique qu'en présence du HBV, il n'est référencé dans aucune famille virale. La particule, constituée d'une enveloppe entourant une ribonucléoprotéine, mesure 36 nm de diamètre (Figure 1.28). L'acide nucléique du HDV est constitué d'un ARN simple brin circulaire de polarité négative mesurant 1,7 kb. Cet ARN est associé à l'antigène δ sous forme de ribonucléoprotéine. L'enveloppe du HDV contient les protéines d'enveloppe du HBV (antigène HBs).

Cycle de réplication

La fixation et l'entrée du HDV dans la cellule cible sont analogues à ce qui est décrit pour le virus de l'hépatite B et nécessitent la présence du domaine préS1 de l'antigène HBs. L'ARN génomique et l'antigène δ sont ensuite transportés jusqu'au noyau. La réplication de l'ARN viral est réalisée par l'ARN polymérase cellulaire et nécessite la présence de l'antigène δ . L'antigène δ existe sous une forme courte (small δ Ag) de 195 acides aminés et sous une forme longue (large δ Ag) possédant 19 acides aminés supplémentaires. L'ARN génomique sert de matrice à la production de brins d'ARN de

polarité positive qui serviront d'ARN antigénomiques et d'ARN messagers codant l'antigène δ . Les ARN antigénomiques servent eux-mêmes de matrices pour la production des nouveaux ARN génomiques. Les formes courtes et longues de l'antigène δ s'associent aux nouveaux brins d'ARN génomique pour former des ribonucléoprotéines qui sont enveloppées par la membrane du réticulum endoplasmique qui exprime l'antigène HBs (§ cycle de réplication du HBV).

Figure 1.28 : représentation schématique du virus de l'hépatite D (HDV).



Histoire naturelle et paramètres biologiques de l'infection

L'infection par le HDV est soit une co-infection, soit une surinfection de l'hépatite B. La co-infection se traduit fréquemment par une forme grave, alors qu'en règle générale la surinfection se traduit par une infection chronique. L'hépatite chronique delta est le plus souvent sévère et évolue vers la cirrhose. Le diagnostic d'infection aiguë par le HDV se fait par la détection sérique de l'antigène δ et d'anticorps anti-Ag δ .

Épidémiologie

Dans le monde, environ 400 millions de personnes sont infectées chroniquement par le HBV et moins de 10 % d'entre elles sont co-infectées par le virus delta.

Le virus de l'hépatite E (HEV)

Caractéristiques virologiques

D'abord classé dans la famille des *Caliciviridae*, le HEV a été sorti de cette famille après analyse phylogénétique. Son organisation génétique le rapproche de la famille des *Togaviridae* et il est actuellement en attente de classification. La particule du HEV mesure 27 à 34 nm de diamètre. Sa capside possède

une symétrie icosaédrique et présente des indentations et des projections superficielles. L'acide nucléique est un ARN simple brin de polarité positive de 7,5 kb. Le génome contient trois cadres de lecture ouverts : ORF1 code les protéines nécessaires à la réplication, ORF2 les protéines structurales et ORF3 une protéine impliquée dans l'assemblage de la nucléocapside.

Cycle de réplication

L'hépatocyte semble être la seule cellule capable de répliquer activement le virus *in vivo*. Le cycle de réplication du HEV est cytoplasmique. Le virus pénètre dans la cellule après fixation sur un récepteur non identifié. Après décapsidation, l'ARN génomique est traduit et les protéines virales nécessaires à la réplication de l'ARN sont produites. L'ARN est répliqué à partir d'un brin complémentaire d'ARN de polarité négative qui sert de matrice. L'ARN est répliqué par une ARN polymérase virale. Après synthèse des protéines de structure, la nucléocapside est assemblée et libérée hors de la cellule.

Histoire naturelle et paramètres biologiques de l'infection

L'infection par le virus de l'hépatite E est asymptomatique dans près de 50 % des cas. Les formes sévères ou fulminantes peuvent atteindre des taux de mortalité de 1 à 3 % chez l'adulte et de 10 à 42 % chez la femme enceinte dans le dernier trimestre de grossesse. Les raisons de l'augmentation de la sévérité de l'infection et du taux de mortalité chez la femme enceinte ne sont pas bien identifiées. L'infection par le HEV possède des caractéristiques physiopathologiques et un tableau clinique assez proches de ceux de l'infection par le virus de l'hépatite A. La période d'incubation est d'environ 40 jours. Des particules virales sont excrétées dans le sang et dans les selles pendant la période pré-ictérique. La période virémique est courte. Le taux d'alanine aminotransférase (ALAT) augmente pendant la phase pré-ictérique et se normalise avec la disparition de l'ictère. Normalement, l'ictère régresse en 1 à 2 semaines. L'infection par le HEV n'évolue pas vers la chronicité. La primo-infection confère une immunité persistante sur plusieurs années.

Le diagnostic biologique est basé sur la détection des anticorps anti-HEV et le taux d'ALAT. Les anticorps anti-HEV apparaissent en même temps que les symptômes, leur taux augmente pendant la phase aiguë puis diminue, mais les anticorps persistent pendant des années.

Modes de transmission

Le HEV se transmet par voie fécale-orale. Le principal mode de transmission est l'ingestion d'eau ou d'aliments souillés, elle est rarement due au contact avec un individu contaminé. La contamination materno-fœtale est le résultat d'un passage transplacentaire dont le risque est accru au cours du 3^e trimestre de grossesse.

Épidémiologie

Les zones d'endémie pour le HEV sont l'Inde, la Chine, le Soudan, la Somalie et le Mexique. Dans ces pays, 20 à 60 % des adultes ont des anticorps anti-HEV, alors que cette prévalence est faible chez l'enfant (0-9 %). La faible prévalence d'anticorps anti-HEV chez l'enfant diffère complètement de ce qui est observé pour les autres infections virales à transmission entérale. Par exemple, dans les zones où l'hépatite A est endémique, la prévalence des anticorps anti-HAV est supérieure à 90 % chez les enfants de 10 ans.

En France ou aux États-Unis, seulement 1 à 2 % des donneurs de sang sont séropositifs pour le HEV.

Autres virus responsables d'hépatites

De nouveaux virus responsables d'hépatites post-transfusionnelles ont été décrits en 1995-1996 aux États-Unis, puis en 1997 au Japon.

Le virus de l'hépatite G (HGV ou GBvirus-C) appartient à la famille des *Flaviviridae*. C'est un virus enveloppé dont le génome est constitué d'un ARN simple brin de polarité positive.

Le HGV se transmet par voie sanguine, sexuelle et materno-fœtale. L'ARN du HGV a été retrouvé dans la salive, suggérant qu'elle puisse être une source possible de contamination.

La prévalence des individus présentant des anticorps anti-HGV est évaluée à 3 à 15 % des donneurs de sang en Europe et en Amérique du nord, elle atteindrait 20 % en Amérique du Sud et en Afrique, et 3 à 6 % en Asie. La prévalence des individus virémiques chez les adultes sains est surprenante : elle serait de 1 à 4 % en Europe et en Amérique du Nord et de 10 à 33 % en Afrique et en Amérique du Sud.

Une infection périnatale ou contractée dans la petite enfance conduit dans la majorité des cas à une infection persistante avec des périodes virémiques, sans aucun signe de pathologie hépatique. Par contre, une infection contractée à l'âge adulte est généralement transitoire, elle se traduit par l'apparition d'anticorps anti-HGV et une clearance virale. Le HGV est considéré comme responsable d'hépatites post-transfusionnelles non A-E. Cependant, son pouvoir pathogène reste discuté dans la mesure où les descriptions cliniques des hépatites à HGV vont de formes fulminantes à un portage chronique asymptomatique, et que les individus porteurs sont souvent co-infectés par d'autres virus hépatotropes.

Le virus TT (TTV) a été décrit pour la première fois au Japon en 1997. Ce virus a été classé dans la famille des *Circoviridae*. Le TTV est un virus nu. Son génome est constitué d'un ADN circulaire simple brin de polarité négative. Sa variabilité génomique est assez importante, 11 génotypes sont décrits. Lors de l'infection, le TTV est retrouvé dans le sang et dans la bile. Sa transmission peut donc se faire par voie sanguine, mais aussi par voie fécale-orale. Ce virus peut être responsable d'infections aiguës ou chroniques. Cependant, la prévalence du TTV semble assez élevée (10 à 15 %) et son pouvoir pathogène est donc discuté.

Références bibliographiques

Balfour HH : Antiviral drugs. *N Engl J Med* 1999; 340 : 1255-68.

Braun DK, Dominguez G and Pellett PE : Human Herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10 : 521-67.

Corey L, Brodie S, Huang ML, Koelle DM and Wald A : HHV-8 infection : a model for reactivation and transmission. *Rev Med Virol* 2002; 12: 47-63.

Cuthbert JA : Hepatitis A : old and new. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 38-58.

Emerson SU and Purcell RH : Hepatitis E virus. *Rev Med Virol* 2003; 13 : 145-54.

Ganem D and Prince AM : Hepatitis B virus infection - Natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350 : 1118-29.

Jansen KU and Shaw AR : Human papillomavirus vaccines and prevention of cervical cancer. *Annu Rev Med* 2004; 55 : 19-31.

Kosuge H : HHV-6, 7 and their related diseases. *J Dermatol Sci* 2000; 22 : 205-212.

Lai CL, Ratziu V, Yuen MF and Poynard T : Viral hepatitis B. *Lancet* 2003; 362 : 2089-94.

Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G and Lembo D : The human cytomegalovirus. *Pharmacol Therap* 2003; 98 : 269-97.

Macsween KF and Crawford DH : Epstein-Barr virus-recent advances. *Lancet Infect Dis* 2003; 3 : 131-40.

McCrary ML, Severson J and Tying SK : Varicella zoster virus. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41 : 1-14.

Ouvrage collectif : *Les virus transmissibles par le sang*. John Libbey Eurotext, Montrouge, 1987.

Pawlotsky JM and Dhumeaux D : *Hépatite C*. EDK, Paris, 2004.

Seeger C and Mason WS : Hepatitis B virus Biology. *Microbiol Molec Biol Rev* 2000; 64 : 51-68.

Taylor JM : Replication of human hepatitis delta virus : recent developments. *Trends Microbiol* 2003; 11 : 185-90.

Terzian H : *Les virus, de la structure aux pathologies*. Diderot Éditeur, 1998.

Worm HC, van der Poel WHM and Brandstätter G : Hepatitis E : an overview. *Microbes and Infection* 2002; 4 : 657-66.

Les micromycètes (L. Bunetel)

Les micromycètes sont des champignons microscopiques dont plus de 100 000 espèces sont connues actuellement. Quelques centaines d'entre elles sont potentiellement pathogènes pour l'homme et seront responsables de mycoses.

Contrairement aux bactéries, ce sont des organismes eucaryotes constituant une entité à part entière puisqu'ils n'appartiennent ni au monde animal, ni au monde végétal. Ils sont hétérotrophes ; ils ont besoin, pour se développer, de matière organique préformée. Ils évoluent soit en saprophytes (développement sur support mort), soit en commensaux (association dans l'indifférence mutuelle avec leur hôte), soit, enfin, en parasites obligatoires ou opportunistes (association défavorable à l'hôte).

On distingue des espèces filamenteuses, formant un mycélium appelé thalle et des espèces levuriformes. Certaines espèces sont capables de se développer selon les deux modes. La contamination de l'homme peut être d'origine endogène : infection à partir d'une espèce commensale qui va exprimer sa pathogénicité à la faveur de facteurs favorisants. C'est le cas de *Candida albicans*. La contamination peut être également d'origine exogène. Dans ce cas, elle s'effectue à partir de l'environnement : eau, végétaux ou animaux. Seules les espèces strictement anthropophiles sont contagieuses dans l'espèce humaine.

Un certain nombre de facteurs favorisent l'émergence d'une mycose. Ils sont physiologiques : âge, grossesse, sexe, ou pathologiques : maladies entraînant une immunodépression, maladies endocrines ou iatrogènes, médicaments, gestes médico-chirurgicaux ou exposition aux radiations ionisantes. Enfin, certaines professions sont plus exposées que d'autres.

Nous étudierons ici, les espèces de micromycètes impliquées dans des pathologies de la sphère ORL (Figure 1.29).

Mycoses à levures opportunistes : *Candida albicans* et autres *Candida*.

Mycoses à champignons dimorphiques :

- *Histoplasma*.
- *Blastomyces*.
- *Paracoccidioides*.

Mycoses à champignons filamenteux opportunistes : *Aspergillus*.

Candida

Considérations taxonomiques

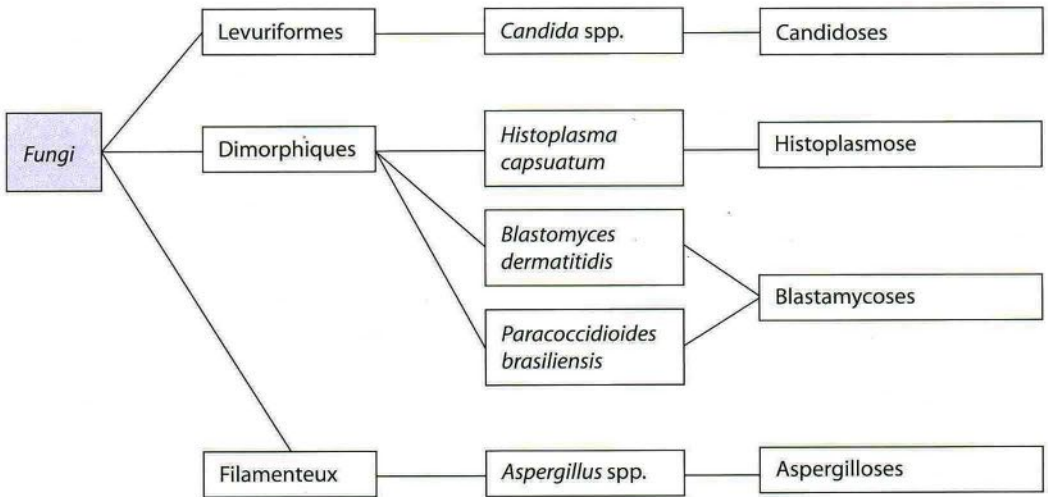
Les levures sont des champignons unicellulaires qui se reproduisent par bourgeonnement de blastospores, se séparent de la cellule mère et rebourgeonnent à leur tour. Non ascospores (pas de reproduction sexuée), elles appartiennent aux deutéromycètes ou *fungi imperfecti*.

Actuellement, 196 espèces de *Candida* sont connues dans la nature. Une dizaine est commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Elles sont potentiellement pathogènes. La plus fréquemment rencontrée est *Candida albicans*. D'autres espèces peuvent être pathogènes : *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* (filamenteux).

Écologie-Habitat

C. albicans est un champignon commensal de la peau et des muqueuses présent à l'état physiologique dans la flore digestive et la flore vaginale. Il est retrouvé dans la flore buccale de 50 % des individus

Figure 1.29 : classification des Fungi.



sans caractère pathogène. De nombreux animaux sont également porteurs sains de levures du genre *Candida*. Bien qu'il n'ait pas de besoins nutritionnels particuliers limitant sa survie dans l'environnement et à l'inverse d'autres *fungi* hautement pathogènes, *Candida albicans* est rarement retrouvé dans des niches environnementales comme le sol.

Morphologie, caractères cultureux

L'examen direct, réalisé en eau physiologique, permet l'observation des formes levures. *Candida albicans* est une levure non pigmentée, non capsulée, arrondie ou ovale de 2 à 4 µm, à bourgeonnement multilatéral. *Candida albicans* est capable de croître sous forme levure ou sous forme filamenteuse ou pseudo-filamenteuse (Figure 1.30).

En culture, les colonies blanchâtres crémeuses apparaissent en 24 à 48 heures. *C. albicans*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii* se développent en présence d'actidione, les autres pas.

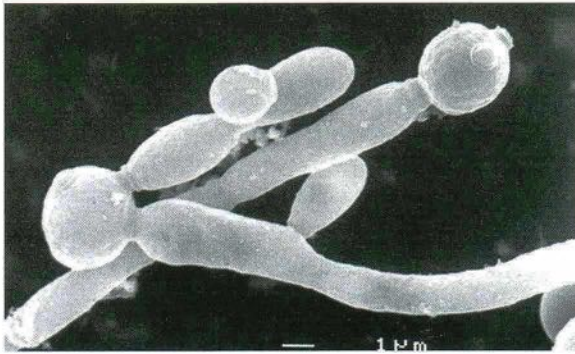
Les milieux pauvres tels que le PCB (pomme de terre, carotte, bile) ou le RAT (*Rice Agar Tween*) permettent de mettre en évidence le mycélium ou le pseudomycélium des *Candida* filamenteux et le mycélium et les chlamydospores, formes de résistance spécifiques de *C. albicans*.

Identification du genre et de l'espèce

Un diagnostic de présomption est facilement réalisable grâce au test de blastèse. Il consiste à ensemer une colonie dans 1/2 cc de sérum de veau, incubé 3 heures à 37°C et examiner entre lame et lamelle. Le test est positif si 50% des levures présentent un tube germinatif. Il permet le diagnostic d'espèce de *C. albicans* et de *C. stellata*. Les autres espèces ne forment pas de filaments en 3 heures.

Les méthodes enzymatiques utilisent les substrats chromogènes d'une enzyme spécifique d'espèce comme la L-proline amidopeptidase et la bêta-galactosaminidase qui vont colorer la colonie à identifier directement sur le milieu de culture.

Figure 1.30 : *Candida* observé au MEB (Microbiologie – Université Rennes 1).

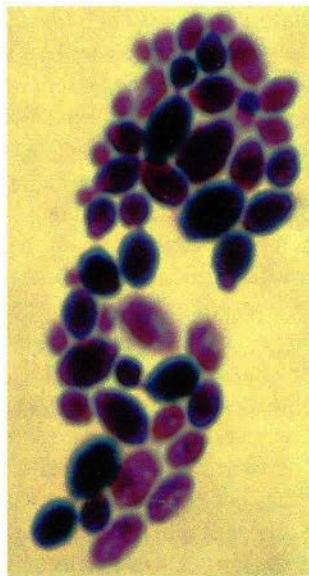


Différentes galeries d'identification existent : ID 32C, API Candida, RapID Yeast Plus System (5 heures). Elles permettent une identification rapide.

En histologie, après coloration au PAS (*Periodic Acid Schiff*) ou au Gomori-Grocott, les champignons apparaissent en rose foncé ou marron (Figure 1.31). La présence de levures et/ou mycélium dans les tissus constitue la preuve d'une candidose profonde.

Sérologie : aucune technique n'est complètement fiable pour le diagnostic des mycoses profondes. On dispose de latex pour la recherche d'antigènes circulants, de globules rouges humains sensibilisés aux antigènes somatiques : anticorps anti-IgM, IgA et IgE, du dosage de bêta D glucane : Fungitec G test et enfin des techniques classiques d'immunofluorescence indirecte, de contre-immunoelectrophorèse (CIE), d'immunoelectrophorèse (IEP), d'ELISA, faisant intervenir différents antigènes.

Figure 1.31 : *Candida* après coloration au GRAM (Microbiologie – Université Rennes 1).



Pouvoir pathogène

Les levures d'intérêt médical sont responsables de pathologies opportunistes. La contamination est soit d'origine endogène : à partir de la flore de l'individu, soit d'origine exogène : lors du passage transvaginal pour le nouveau-né, par transmission manuportée ou lors d'un rapport sexuel contaminant. Le passage de la forme commensale à la forme pathogène est lié à la fois à l'hôte et à *Candida* lui-même.

En ce qui concerne l'hôte, un système immunitaire intact et une flore bactérienne correcte sont des éléments suffisants pour protéger de l'infection par *Candida*. Il se crée alors une interface permanente hôte-pathogène. Le *fungi* prolifère, mais l'expression de son pouvoir pathogène est empêchée par la flore normale, les cellules épithéliales et le système immunitaire.

Peu de micro-organismes sont capables d'engendrer une pathogénicité comparable à celle de *Candida*. C'est pourquoi, la seule notion de terrain ne suffit pas à expliquer le pouvoir pathogène. L'invasion et la dissémination demandent des adaptations spécifiques rendues possibles par l'expression d'un programme génétique distinct.

C. albicans fait preuve d'une grande plasticité morphogénique. Il existe sous forme levure : articles séparés, arrondis de 2 à 4 μm . La forme de pseudo-mycélium correspond à une élongation de la forme levure réalisant une chaîne dont les cellules prises individuellement conservent leur structure de levure. La forme mycélienne réalise un véritable filament où les cellules communiquent entre elles par des septa. Les chlamydo-spores sont des formes de résistance. *In vitro*, le passage entre les différentes formes est obtenu par des variations de pH, de température et de nutriments. *In vivo*, la forme mycélienne est généralement corrélée à l'invasion tissulaire et la forme levure à la dissémination via la circulation sanguine. Il serait intuitivement attractif de considérer le pseudo-mycélium comme un état transitoire entre la forme levure et le vrai mycélium. Il est également possible que le vrai et le pseudo-mycélium soient des états alternatifs d'un même but : l'infection.

Candida albicans est doté d'adhésines : Hwp1, Ala 1p, Als... Elles favorisent la première étape de la relation hôte-parasite. Les Als (*Agglutinin Like Sequence*) constituent une famille de huit glycoprotéines de surface qui permettent au *fungi* d'adapter son profil d'adhérence aux différentes cellules de l'hôte. Elles sont également responsables de l'agrégation.

Candida albicans est capable de survivre et de proliférer dans des environnements drastiques en O_2 , CO_2 , pH, osmolarité et température grâce à son arsenal enzymatique. L'activité protéasique est associée à dix aspartyl protéases : Sap (*Secreted Aspartic Proteinase*), codées par dix gènes différents (SAP 1 à 10) qui possèdent des pH optimum de fonctionnement de pH2 à pH7. Leur expression est nécessaire, à la fois pour la phase commensale et pour la phase maladie. Elle est modulée par le type d'infection et son niveau ainsi que par les conditions de pH et de substrat disponible. C'est un système protéolytique efficace et suffisamment flexible pour un pathogène opportuniste. Doté de superoxyde-dismutase, il est capable de contrer le système oxydatif des cellules phagocytaires.

Candida albicans possède les gènes de régulation du pH : PHR1 et PHR2 qui sont exprimés différemment. PHR1 régule le pH alcalin. Il est nécessaire à l'envahissement systémique, mais n'intervient pas à pH acide. PHR2 régule le pH acide et intervient dans l'infection vaginale.

Enfin, *Candida albicans* est capable de switch et génère ainsi différents types de colonies qui diffèrent par leur apparence en culture (blanches ou opaques) et par la forme des levures (arrondies ou allongées). De nombreux gènes sont exprimés différemment entre ces deux phases. Ils interviennent dans la capacité d'adaptation rapide du *fungi* à son environnement, codent pour des mécanismes

d'adhésion, une antigénicité et une assimilation des sucres différents. Ils permettent également à *Candida* de faire varier sa composition protéique et lipidique et d'échapper au traitement.

Physiopathologie

Le passage de la forme commensale à la forme pathogène est lié à la multiplication intense de *Candida* dans son biotope. Un certain nombre de facteurs favorisent ce passage. Les facteurs intrinsèques liés au terrain de l'individu peuvent être physiologiques. Aux âges extrêmes de la vie, nouveau-né ou vieillard, l'homme est plus vulnérable. La grossesse s'accompagne d'une modification du pH vaginal qui augmente la sensibilité aux infections à *Candida*. Les maladies comme le diabète, les cancers, les hémopathies ou les viroses constituent des facteurs intrinsèques pathologiques qui favorisent l'émergence des infections à *Candida*. Les facteurs extrinsèques sont liés au déséquilibre de la flore bactérienne après traitement antibiotique, aux carences en vitamines B, aux allergies médicamenteuses et ruptures de la barrière cutanéomuqueuse qui permettent le développement des levures sur des muqueuses sensibilisées. Enfin, tous les traitements immunosuppresseurs, les gestes chirurgicaux comme la pose de cathéters et les transplantations sont susceptibles d'induire des infections à *Candida*.

Isolement

Les prélèvements des candidoses superficielles et muqueuses sont réalisés à l'aide d'un écouvillon. Les prélèvements dans les zones profondes varient en fonction de l'organe atteint. Il s'agira d'un lavage broncho-alvéolaire (LBA) pour les formes pulmonaires, de biopsie, ou de recueil de selles pour les formes digestives, d'hémoculture ou de pièce d'exérèse chirurgicale pour les endocardites, d'hémoculture pour les septicémies (seulement 40 à 60 % de positifs selon les systèmes).

Le milieu de culture de choix en mycologie est le milieu de Sabouraud additionné de chloramphénicol (CMP) et d'actidione afin de limiter les contaminations bactériennes et mycéliennes. On ensemence 2 fois 2 tubes (1 sabouraud + CMP/1 Sabouraud + CMP + Actidione) qui seront cultivés à 30 et à 37°C pour les mycoses profondes, à 25 et 30°C pour les mycoses superficielles.

Sensibilité aux antifongiques

Il existe classiquement deux grandes familles de molécules actives contre les micromycètes : les polyènes et les imidazolés. Elles ont pour cible l'ergostérol contenu dans la membrane plasmique. L'émergence de souches résistantes a dynamisé la recherche et de nouvelles molécules, réservées pour l'instant à l'usage hospitalier, apparaissent. Quoi qu'il en soit, le traitement, en particulier pour les candidoses profondes, doit être adapté en fonction des résultats de l'antifongigramme.

Les champignons dimorphiques

Le terme dimorphique désigne des champignons qui se présentent sous deux aspects morphologiques selon leurs conditions de développement :

- un aspect levuriforme qui correspond en général aux formes observées à l'état parasitaire ;
- un aspect mycélien obtenu généralement en culture sur les milieux classiques représentant la forme saprophyte.

Les champignons concernés sont responsables d'affections graves. Ces affections sont rares en France. Il s'agit de mycoses exotiques, les cas français sont importés.

En fonction de leurs localisations préférentielles, les affections sont classées en deux groupes :

- les mycoses profondes : histoplasmoses, blastomycose ;
- les mycoses sous-cutanées : sporotrichose et mycétomes.

Histoplasma capsulatum

Considérations taxonomiques

Histoplasma est un champignon dimorphique dont il existe 2 formes :

- la forme dite américaine : *Histoplasma capsulatum capsulatum*, forme à petites levures qui se développent dans les cellules du système réticulo-endothélial : histiocytes et macrophages ;
- la forme dite africaine : *H. capsulatum duboisii*, forme à grandes levures qui se développent dans des cellules géantes appelées plasmodes.

Ces deux champignons donnent des mycoses différentes par leur épidémiologie et leur aspect clinique, elles sont différentes à l'état parasitaire, mais identiques en culture.

Écologie-Habitat

Histoplasmoses à *Histoplasma capsulatum capsulatum*

D'abord signalée en Amérique qui constitue sa zone d'endémie, elle est maintenant connue sur tous les continents et répertoriée dans plus de 30 pays. Mycose non spécifique de l'homme, elle peut se développer chez les animaux, mais le véritable réservoir de germes est le sol, surtout lorsqu'il est enrichi par des matières organiques telles que les fientes de pigeon ou le guano des chauves-souris.

Histoplasmoses à *Histoplasma capsulatum duboisii*

Elle est exclusivement africaine, mais des cas d'importation sont possibles.

Morphologie, caractères culturels

À l'examen direct, les petites levures d'*Histoplasma capsulatum capsulatum* mesurent de 1 à 3 µm. Elles sont strictement intracellulaires.

Les grandes levures d'*Histoplasma capsulatum duboisii* mesurent de 10 à 13 µm voir 20 µm avec une membrane épaisse et réfringente. Elles apparaissent soit dans les cellules géantes, soit libres dans le pus. Les deux variétés sont cultivées sur milieu de Sabouraud en 2 à 4 semaines. Elles présentent des filaments septés de 2 à 4 µm de large avec des microspores et des macrospores échinulées (chlamydospores) de 10 à 25 µm. La culture d'*Histoplasma capsulatum* est réservée aux laboratoires spécialisés du fait de la contagiosité de la forme mycélienne. La forme levure peut être obtenue par culture sur milieu enrichi (cœur cerveau) à 37°C.

Identification du genre et de l'espèce

L'identification d'*Histoplasma* peut être cytologique : à l'examen direct après coloration au Giemsa. Le diagnostic de certitude sera posé après examen anatomopathologique d'une biopsie ou après culture positive.

La coloration de PAS (*Periodic Acid Schiff*) ou de Gomori Grocott sur les coupes histologiques montre la présence d'un granulome histiocyttaire contenant des formes levures.

Pouvoir pathogène

De sa forme saprophyte dans le sol, *Histoplasma* devient un hôte intracellulaire des cellules histocytaires grâce à de nombreux mécanismes d'adaptation. Il est capable d'adhérer directement aux récepteurs de surface CR3, CR4 et CD18 des macrophages par son ligand HSP60. Internalisé dans le phagolysosome, il en modifie l'environnement en augmentant le pH, en inhibant la pompe à

proton ATP dépendante. La transformation *in vivo* de la forme mycélienne en forme levure induit la synthèse de CBP (*Calcium Binding Protein*) capable d'assurer l'approvisionnement en calcium.

Physiopathologie

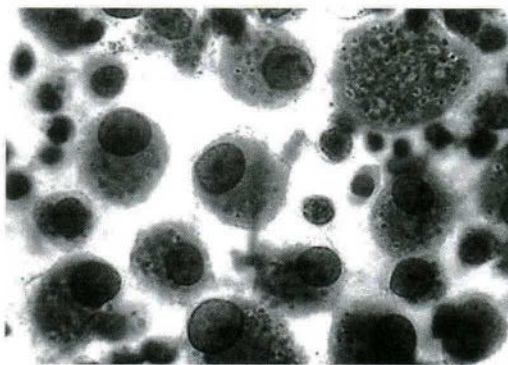
La contamination se fait par inhalation de spores qui sont très contagieuses. Chez l'homme sain, une infestation massive est nécessaire alors que l'immunodéprimé est beaucoup plus vulnérable. Il n'y a pas de contagion interhumaine puisque l'homme n'héberge que la forme levure et ce sont les microspores qui sont infestantes. L'apparition du HIV a considérablement augmenté les cas d'infection à *Histoplasma capsulatum capsulatum*, mais n'influe par sur les infections à *H. capsulatum duboisii*. L'homme adulte est plus souvent affecté que la femme.

Isolement

Les levures sont recherchées dans les expectorations, le sang, la moelle, les biopsies.

Le milieu de culture de choix en mycologie est le milieu de Sabouraud additionné de chloramphénicol (CMP) et d'actidione afin de limiter les contaminations bactériennes et mycéliennes. On ensemence 2 fois 2 tubes (1 sabouraud + CMP/1 Sabouraud + CMP + Actidione) qui seront cultivés à 30 et à 37°C pour les mycoses profondes, à 25 et 30°C pour les mycoses superficielles (Figure 1.32).

Figure 1.32 : *Histoplasma capsulatum* dans macrophages.



Sensibilité aux antifongiques

Histoplasma est sensible aux polyènes et aux imidazolés.

Blastomyces dermatitidis

Considérations taxonomiques

La maladie de Gilchrist, blastomycose nord-américaine est due à *Blastomyces dermatitidis*, champignon dimorphique dont la forme sexuée est connue : *Ajellomyces dermatitidis*.

Écologie et habitat

Cette mycose est pratiquement localisée à la vallée du Mississippi. *Blastomyces* est présent dans le sol et les végétaux en décomposition. Sa survie dans le milieu extérieur est dépendante de l'humidité. Elle n'est pas spécifique de l'homme, les chiens peuvent être atteints.

Identification du genre et de l'espèce

L'identification repose sur la présence des formes levures dans les produits pathologiques et sur les caractères cultureux. Les levures de 5 à 25 µm de diamètre présentent des parois épaisses, à double contour. Elles sont caractérisées par un bourgeon unique à large base et contiennent 8 à 12 noyaux. Après inoculation intrapéritonéale au hamster ou à la souris, le foie et la rate sont mis en culture. Cette méthode est très sensible.

Pouvoir pathogène

La transformation *in vivo* de la forme mycélienne en forme levure permet au champignon d'échapper à la phagocytose grâce à la paroi épaisse de la forme levure. La forme levure est également dotée d'une glycoprotéine antigénique, WI-1 qui fonctionne comme une adhésine et se lie aux récepteurs CR3 et CD14 des macrophages.

Physiopathologie

Seule la forme mycélienne est infectieuse, ses spores pénètrent dans l'organisme humain par voie respiratoire. Il n'y a donc pas de contamination interhumaine. Les populations rurales sont les plus exposées, l'homme est plus fréquemment atteint que la femme.

Isolement

Les levures sont recherchées dans les expectorations, le pus ou les biopsies. *Blastomyces* cultivé sur milieu de Sabouraud à 25°C développe un mycélium ramifié et septé. Les colonies de petite taille poussent en 1 à 3 semaines et se colorent lentement en marron clair. Les formes levures sont observables sur milieu cœur cerveau, à 37°C.

Sensibilité aux antifongiques

Blastomyces est sensible aux imidazolés. L'amphotéricine B ne guérit pas complètement les formes cutanées, mais ralentit leur évolution.

Paracoccidioïdes brasiliensis

Considérations taxonomiques

La maladie de Lutz, blastomycose sud-américaine, est due à *Paracoccidioïdes brasiliensis* (*Blastomyces brasiliensis*), dont la forme sexuée n'est pas connue.

Écologie et habitat

Elle est endémique en Amérique Centrale et en Amérique du Sud et particulièrement fréquente au Brésil (80 % des cas). C'est une affection rurale à contamination buccopharyngée, liée à l'utilisation des végétaux comme cure-dents ou à porte d'entrée pulmonaire.

Identification du genre et de l'espèce

L'identification repose sur la présence des formes levures dans les produits pathologiques et sur les caractères cultureux. La culture très lente à 25°C forme un duvet blanc. La forme levure est obtenue à 37°C sur milieu cœur cerveau.

Le diagnostic sérologique repose sur la mise en évidence d'antigènes circulants GP43 ou GP70 par immunodiffusion ou ELISA.

Pouvoir pathogène

La transformation *in vivo* de la forme mycélienne en forme levure permet au champignon d'échapper à la phagocytose grâce à la synthèse de facteurs de virulence : catalase, GP43, GP70 au moment de la transformation. La glycoprotéine de surface GP43 est un composant antigénique majeur du champignon. La glycoprotéine cytoplasmique GP70 induit la prolifération lymphocytaire à l'origine du granulome.

Physiopathologie

Seule la forme mycélienne est infectieuse, ses spores pénètrent dans l'organisme humain par voie respiratoire ou par voie orale. Il n'y a donc pas de contamination interhumaine. Seuls les hommes sont atteints, les hormones femelles inhibent *in vitro* la transformation des filaments en levures. Les immunodéprimés sont plus vulnérables.

Isolement

Les levures sont recherchées dans les expectorations, le pus ou les biopsies. Le diagnostic repose sur la mise en évidence, dans les prélèvements ou biopsies, de la forme levure : 10 à 60 µm, arrondie, à bourgeons multiples, à paroi mince. La coloration de PAS (*Periodic Acid Schiff*) ou de Gomori Grocott sur les coupes histologiques montre la présence d'un granulome inflammatoire à lymphocytes, cellules épithélioïdes et cellules géantes de Langhans.

Sensibilité aux antifongiques

Paracoccidioidomycetes est sensible aux polyènes, aux imidazolés et aux sulfamides.

Aspergillus

Considérations taxonomiques

Les champignons filamenteux du genre *Aspergillus* sont caractérisés par une multiplication asexuée au moyen de conidies produites par des organes de morphologie particulière : les têtes aspergillaires. Ces têtes aspergillaires sont constituées de conidiophores surmontés de phialides qui vont produire des spores. La reproduction sexuée de certaines espèces est connue ce qui permet de classer les *Aspergillus* comme la forme imparfaite de champignons ascomycètes du genre *Eurotium*. Il existe plus de 300 espèces d'*Aspergillus* réparties de façon cosmopolite.

Écologie et habitat

Ce sont des champignons saprophytes banaux rencontrés sur des substrats les plus variés : débris végétaux, papiers, cuirs, tissus... Les spores produites par les têtes aspergillaires sont responsables de leur formidable pouvoir de dissémination (2 à 8 % des spores fongiques de Paris). Les spores conservent très longtemps leur pouvoir germinatif. Elles peuvent contaminer leurs différents substrats et, être inhalées par l'homme ou les animaux (oiseaux, pigeons, poussins, canards, bovins, chevaux, chats et chiens).

Caractères cultureux

Les *Aspergillus* poussent sur milieux ordinaires : Sabouraud + CMP, ils sont sensibles à l'Actidione. On obtient davantage d'organes de fructification (têtes aspergillaires) sur milieu de Czapeck.

Identification

Examen direct

À l'examen direct, après addition de KOH 30 % si nécessaire, l'observation révèle la présence de filaments mycéliens cloisonnés. Les têtes aspergillaires sont très rares. Les colonies apparaissent en 48 à 72 heures et prennent une coloration après 3 à 4 jours par coloration des spores.

Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies permet déjà une orientation d'espèce.

A. fumigatus : vert bouteille, revers incolore ou pigmenté de rouge (Figure 1.33).

A. flavus : culture poudreuse vert jaunâtre.

A. nidulans : marron plus touffes cotonneuses blanches.

A. nige : noir.

Figure 1.33 : aspect macroscopique d'*Aspergillus fumigatus* (Microbiologie – Université Rennes 1).



Aspect microscopique

Le montage au bleu coton permet la recherche et l'identification des organes de fructification : les têtes aspergillaires (Figure 1.34).

A. fumigatus : tête évasée, une seule rangée de phialides.

A. flavus : tête elliptique, conidiophore long et piqueté, une seule rangée de phialides.

A. nidulans : tête ellipsoïde, une ou deux rangées de phialides, reproduction sexuée possible.

A. niger : tête ronde, deux rangées de phialides.

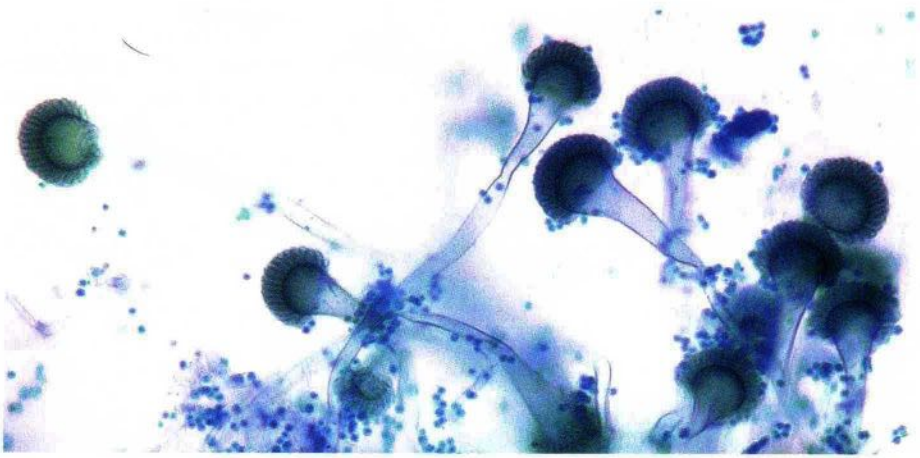
Examen histologique

Après montage de la pièce d'exérèse dans la paraffine, les coupes histologiques sont colorées par le PAS ou le GROCOTT.

Diagnostic sérologique

- IEP : arc C spécifique, signe une maladie évolutive.
- CIE couplée à la recherche des arcs à activité catalasique et chymotrypsique.
- ELISA.
- Recherche d'antigènes aspergillaires circulants (fractions pariétales).

Figure 1.34 : aspect microscopique d'*Aspergillus fumigatus* (Microbiologie – Université Rennes 1).



Pouvoir pathogène

Aspergillus fumigatus est doté d'un équipement enzymatique important. Il dispose de trois catalases différentes : une produite par les conidies et deux produites par le mycélium. Les deux catalases mycéliennes protègent le champignon de la réaction de l'hôte. Il dispose également de protéases : serine, aspartyl et métalloprotéases. Il produit une superoxyde dismutase et des phospholipases. Il est capable de synthétiser des molécules toxiques telles qu'une ribonucléase et une hémolysine. Il semble que la virulence du champignon soit multifactorielle. Elle est corrélée à son équipement protéique, à la petite taille de ses conidies qui peuvent pénétrer le parenchyme pulmonaire en profondeur et à la croissance rapide du mycélium à 37 °C. Ces éléments expliquent sa redoutable efficacité chez un hôte privé de polynucléaires neutrophiles.

Physiopathologie

Les *Aspergillus* sont pathogènes opportunistes chez l'homme, alors qu'ils sont pathogènes chez l'animal. Chez l'homme, la pathologie s'exprime sur des terrains prédisposés : déficits immunitaires, anciens tuberculeux. Chez l'homme sain, les spores inhalées sont rejetées par la barrière muco-ciliaire ou phagocytées par les macrophages alvéolaires. Certaines professions sont plus particulièrement exposées : agriculteurs, meuniers, grainetiers, éleveurs de pigeons.

Isolement

Les *Aspergillus* sont des moisissures banales de l'environnement. Leur présence dans un prélèvement n'a aucune signification en l'absence d'un tableau clinique évocateur.

Les prélèvements sont fonction des atteintes cliniques : expectorations, liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), exérèse pulmonaire, sérum...

Sensibilité aux antifongiques

Le traitement doit être adapté en fonction des résultats de l'antifongigramme. Il est délicat, d'une part, du fait des localisations particulières du champignon, d'autre part du fait de la résistance aux antifongiques. L'amphotéricine B démontre une activité faible ou variable.

Références bibliographiques

- Bradsher RW, Chapman SW, Pappas PG : Blastomycosis. *Inf Dis Clin North Am* 2003; 17 : 21-40.
- Carvalho KC, Ganiko L, Batista WL, Morais FV, Marques ER, Goldman GH, Franco MF, Puccia R : Virulence of *Paracoccidioides brasiliensis* and gp43 expression in isolates bearing known PbGP43 genotype. *Microbes Infect* 2004.
- Correa ME, Soares AB, de Souza CA, Cintra ML, Jorge J, Almeida OP, Vargas PA : Primary aspergillosis affecting the tongue of a leukemic patient. *Oral Dis* 2003; 9 : 49-53.
- de Mattos Grosso D, de Almeida SR, Mariano M, Lopes JD : Characterization of gp70 and anti-gp70 monoclonal antibodies in *Paracoccidioides brasiliensis* pathogenesis. *Infect Immun* 2003; 71 : 6534-42.
- Godoy H, Reichart PA : Oral manifestations of paracoccidioidomycosis. Report of 21 cases from Argentina. *Mycoses* 2003; 46 : 412-417.
- Hernandez SL, Lopez De Blanc SA, Sambuelli RH, Roland H, Cornelli C, Lattanzi V, Carnelli MA : Oral histoplasmosis associated with HIV infection : a comparative study. *J Oral Pathol Med* 2004; 33 : 445-450.
- Hube B : From commensal to pathogen : stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol* 2004; 7 : 336-41.
- Latge JP : The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. *Trends Microbiol* 2001; 9 : 382-389.
- Loeb I, Keiani-Motlagh K, Dargent JL, Hermans P, Van Reck J : Histoplasmosis of the oral cavity. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2004; 105 : 215-218.
- Moreira SF, Bailao AM, Barbosa MS, Jesuino RS, Felipe MS, Pereira M, de Almeida Soares CM : Monofunctional catalase P of *Paracoccidioides brasiliensis* : identification, characterization, molecular cloning and expression analysis. *Yeast* 2004; 21 : 173-82.
- Myoken Y, Sugata T, Kyo T, Fujihara M, Kohara T, Katsu M, Tamura M, Mikami Y. Invasive *Aspergillus stomatitis* in patients with acute leukemia : report of 12 cases. *Clin Infect Dis* 2001; 33 : 1975-1980.
- Naglik J, Albrecht A, Bader O, Hube B : *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cell Microbiol* 2004; 6 : 915-926.
- Sudbery P, Gow N, Berman J : The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 2004; 12 : 317-324.
- Vargas K, Srikantha R, Holke A, Sifri T, Morris R, Joly S : *Candida albicans* switch phenotypes display differential levels of fitness. *Med Sci Monit* 2004; 10 : 198-206.
- Whiteway M, Oberholzer U : *Candida* morphogenesis and host-pathogen interactions. *Curr Opin Microbiol* 2004; 7 : 350-357.
- Woods JP : Knocking on the right door and making a comfortable home : *Histoplasma capsulatum* intracellular pathogenesis. *Curr Opin Microbiol* 2003; 6 : 327-331.

Les zooparasites (M. Bonnaure-Mallet)

Introduction

Les parasites occupent un vaste domaine chez les êtres vivants. Par définition, les parasites vivent aux dépens d'un ou plusieurs hôtes pendant une partie ou tout au long de leur cycle de vie. Deux grandes catégories de parasites existent chez l'homme, ce sont les zooparasites qui appartiennent au règne animal et les *fungi* ou champignon du règne « champignon ».

Dans ce chapitre, les quelques zooparasites susceptibles d'être responsables de manifestations buccales seront décrits. Pour une revue complète, les lecteurs se référeront à l'ouvrage *Parasitologie - Mycologie* (ANOFEL) écrit par l'Association française des enseignants de parasitologie.

Les zooparasites sont communément divisés en arthropodes, helminthes et en parasites eucaryotes (Figure 1.35). Chez l'homme, certains d'entre eux sont responsables de parasitoses. Les parasitoses sont largement distribuées dans le monde. Ce sont des fléaux importants dans les pays en voie de développement. Dans les pays industrialisés, à côté des parasitoses dues aux parasites autochtones, les « parasitoses importées » se rencontrent plus fréquemment. Ceci est lié à l'augmentation des mouvements de population (voyageurs, immigrés...). Les parasitoses « tropicales » sont observées dans les pays européens avec l'accroissement des échanges culturels, touristiques ou commerciaux. Il est admis que les individus qui voyagent entre les différents pays sont sensibles aux infections parasitaires lorsqu'ils visitent des pays où les parasites sont endémiques et que les maladies parasitaires atteignent les individus appauvris et en particulier les individus immunodéprimés.

Pendant une partie ou pendant la totalité de son cycle vital, le parasite vit aux dépens d'un hôte. Pour passer d'une génération à la suivante, le parasite subit un ensemble de transformations appelées cycle. Le cycle direct ne comporte qu'un seul hôte : il est dit monoxène. Le cycle indirect, ou hétéroxène (Figure 1.36), comporte obligatoirement la succession de deux ou plusieurs hôtes. L'hôte définitif est celui qui héberge la forme sexuée du parasite, l'hôte intermédiaire est celui qui héberge la forme asexuée. Dans certains cas, la présence du parasite chez son hôte est neutre ; dans d'autres cas, elle altère la santé de l'hôte. Les parasites peuvent produire des infections sérieuses et exceptionnellement la mort. Dans le cadre de l'odonto-stomatologie, les parasites d'intérêt sont regroupés dans cette section en arthropodes (insectes), helminthes (vers) et parasite eucaryote.

Arthropodes

Le phylum des arthropodes est vaste. L'embranchement des arthropodes contient environ 800 000 espèces qui vivent dans l'eau, sur le sol et dans l'air. Les insectes, les araignées, les crustacés font partie de cet embranchement. La classe des insectes et la classe des arachnides peuvent être responsables de parasitoses chez l'homme. Au cours du cycle de leur vie, les arthropodes peuvent héberger des organismes parasites, servir de vecteurs pour une variété importante de pathogènes ou entraîner directement des lésions tissulaires et des maladies chez l'homme. Les effets pathogènes sont plus prononcés dans les zones tropicales, mais ils existent également dans les pays à climat tempéré. Dans la classe des insectes, les larves de diptères du genre *Calliphoridae* peuvent être responsables de myiases buccales. Le cycle est monoxène. La voracité des larves de *Calliphoridae* est impressionnante car elles font partie des rares espèces qui peuvent cataboliser le collagène. L'identification de la mouche res-

Figure 1.35 : répartition des zooparasites.

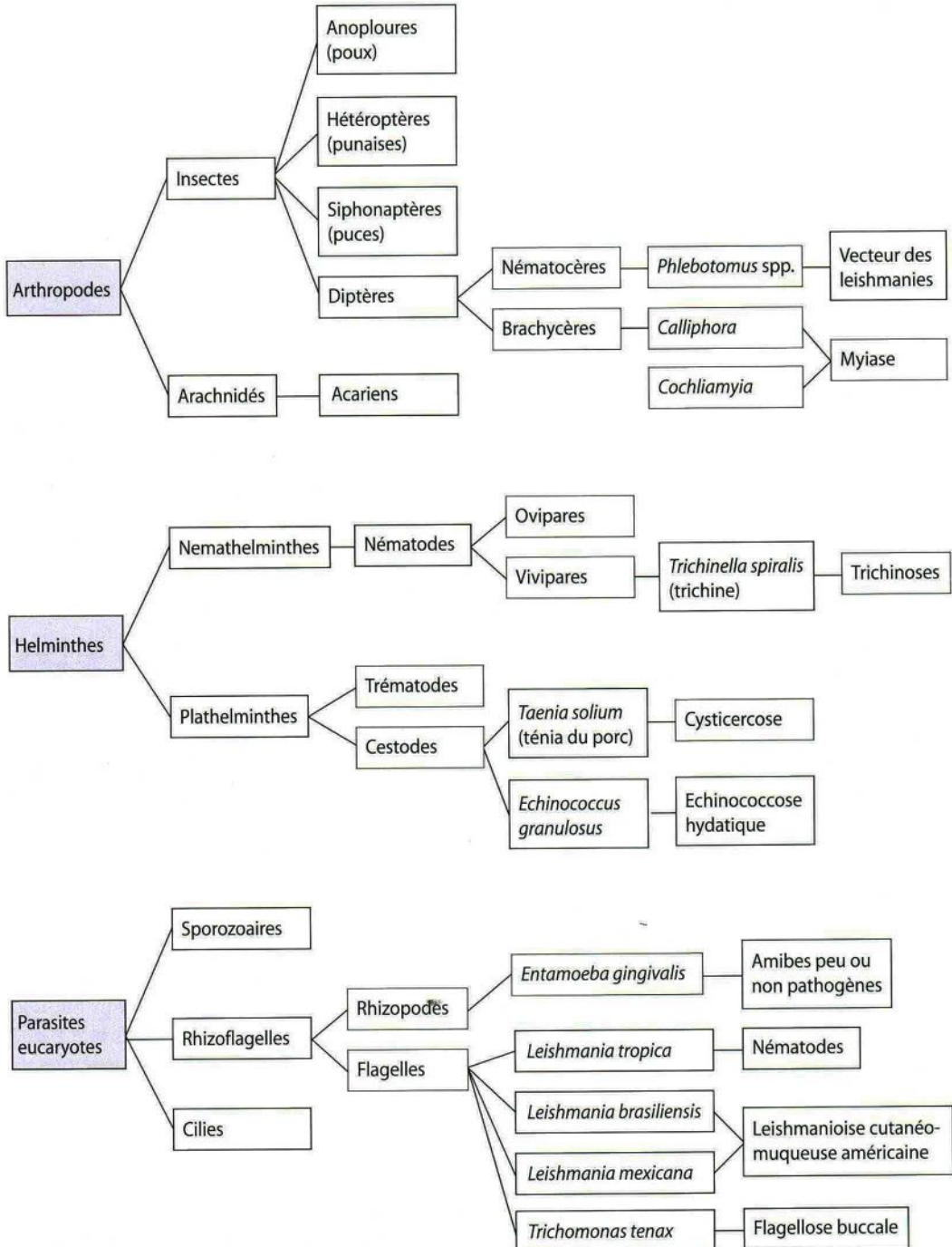
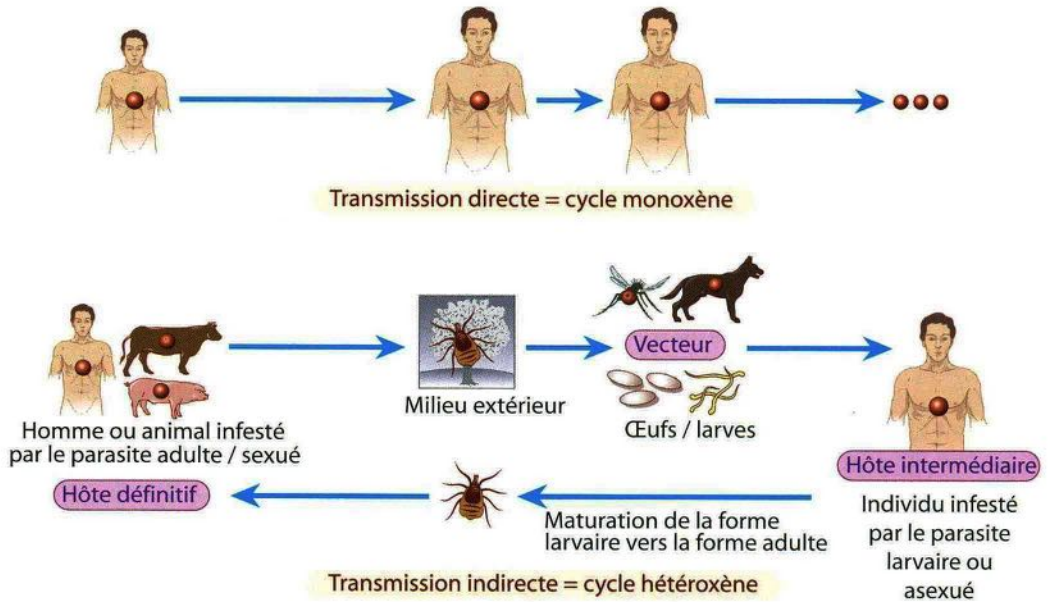


Figure 1.36 : cycles monoxène et hétéroxène.



ponsable de la myiase est difficile. Leur stade de développement est déterminé par leur taille, leur morphologie, leur extrémité caudale et le nombre de spiracles (branchies) qu'elles possèdent. En l'absence de diagnostic précis par un spécialiste, les myiases sont classées par manifestations cliniques selon le lieu infecté : par exemple cavités de la face, conduits naturels, cutanée ou sous-cutanée.

Calliphora vomitoria et *Calliphora vicina*

La mouche femelle se pose sur des plaies et pond des œufs sous forme de petits amas. Le développement des œufs dure de 3 à 4 jours. Ils éclosent sous forme primaire, à l'état de larves. Ces larves se nourrissent des tissus de la plaie, se transforment ensuite une deuxième fois, puis une troisième fois, toujours à l'état larvaire.

Cochliomyia hominivorax

Les larves de *C. hominivorax* (lucilie bouchère) sont des parasites obligatoires. Elles vivent donc aux dépens de l'hôte. Les mouches femelles déposent les œufs sur les berges d'une plaie ou d'une cavité naturelle. Vingt-quatre heures après l'ovoposition, les larves (asticots) émergent et immédiatement commencent à se nourrir des tissus sous-jacents. Le développement est dépendant de la température. Dans la cavité buccale, le stade de larve mature peut être atteint en quelques jours. La larve au stade 3 a une taille d'environ 1 cm, de couleur blanchâtre.

Les helminthes

Plusieurs embranchements existent chez les helminthes. Ce sont :

- les nemathelminthes avec la classe des nématodes. Les nématodes vivipares avec les trichines sont responsables de manifestations buccales;

- les plathelminthes avec les classes des trématodes et des cestodes. Seules les cestodes peuvent être responsables de pathologies orales avec les *tania* et les *echinococcus*.

Les nemathelminthes – classe des nématodes

Les nématodoses sont des helminthiases liées à la présence dans l'intestin de l'homme de vers ronds ou nématodes.

La plupart des espèces de nématodes vivent dans la terre, l'eau salée. La plupart d'entre eux ont développé une dépendance biologique chez l'homme. La prévalence des nématodoses est excessivement élevée, plusieurs milliards d'individus sont infectés. Les enfants sont particulièrement sensibles à ces infections et souffrent d'une plus grande morbidité.

L'infection à nématodes de la cavité buccale est excessivement rare. Une dizaine de cas ont été rapportés dans la littérature qui concerne le genre *Trichinella*.

Trichinella spiralis ou trichine est un nématode à sexes séparés mesurant quelques millimètres. Ce parasite est un parasite cosmopolite non spécifique de l'homme. Il peut être transmis à l'homme lors de la consommation de viande crue ou peu cuite contenant des larves, le plus souvent entourées d'une capsule. Dans l'intestin grêle, sous l'effet des sucs digestifs, la capsule est rompue, les larves libérées se développent. Une fois les larves arrivées à maturité, la fécondation a lieu dans la lumière de l'intestin. Les femelles fécondées pondent des larves. Ces nouvelles larves entrent dans la circulation générale pour se fixer dans les muscles striés (Figure 1.37). Le plus souvent elles s'enkystent et ont un métabolisme ralenti. La pathologie développée est dépendante du nombre de larves consommées. Plusieurs espèces de trichine ont été décrites en fonction de leur répartition géographique. Le porc reste le principal réservoir de trichine d'où un risque fort s'il est consommé peu cuit. Des cas ont été décrits en Europe de l'Est, en Angleterre, en Italie... où il existe une forte consommation de charcuterie. En Afrique, le phacochère représente également un risque.

Les cestodes

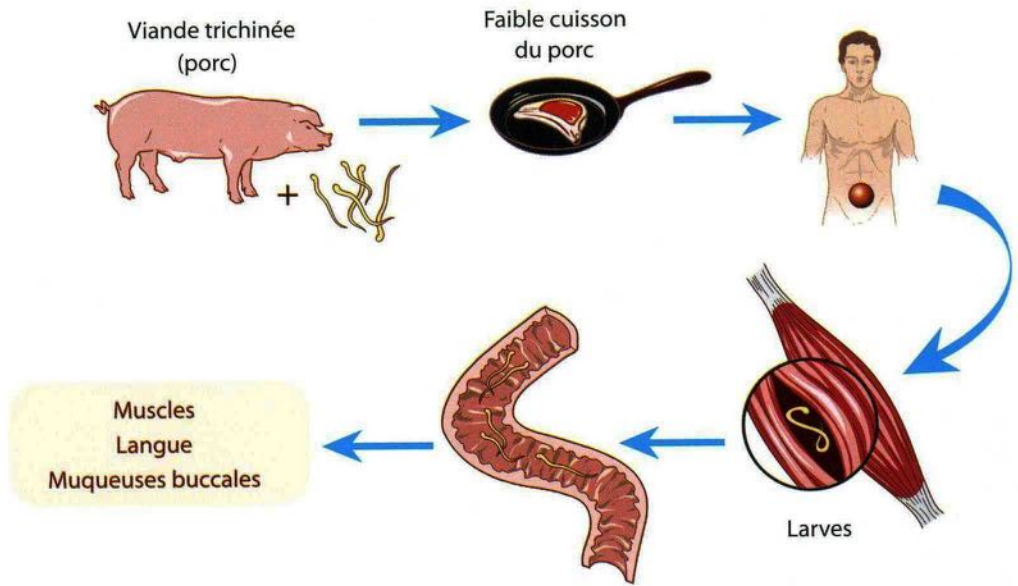
Les cestodes appartiennent aux Plathelminthes. Ce sont des vers plats, mesurant plusieurs mètres de long et à localisation intestinale. Chez leur hôte définitif, ils présentent une tête ou scolex avec des organes de fixation qui peuvent être des ventouses, des crochets ou des bothridies leur permettant de s'accrocher aux muqueuses. Le corps est composé d'anneaux ou proglottis ou segments. Ce sont des vers hermaphrodites; avec des anneaux mâles au début de la chaîne, puis femelles en fin de chaîne. Les anneaux terminaux contiennent les œufs : les embryophores. Les cestodes n'ont pas de tube digestif, la nourriture est assimilée au travers de la cuticule non chitinisée.

La classe des cestodes comprend deux ordres : l'ordre des Cyclophyllidés avec les familles des Dilepididae, des Davaineidae, des Hymenolepididae et des Taeniidae (*Tania saginata*, *T. solium*, *Echinococcus granulosus*) et l'ordre des Pseudophyllidés avec la famille des Diphyllbothriidae (*Spirometra* sp.).

Le cycle du ver est un cycle indirect à deux hôtes. Les embryophores sont libérés par destruction de l'anneau terminal. Les embryophores éliminés dans la nature, dans les fèces animales, sont réabsorbés par un autre individu (herbivore ou omnivore). L'œuf éclôt chez l'individu parasité libérant un embryon qui gagne le foie ou plus rarement un autre organe. À ce niveau, il se transforme en cysticerque ou en larve hydatique.

Les cestodes parasitent l'homme à l'état adulte ou à l'état larvaire. Les cestodes adultes vivent dans l'intestin grêle et déterminent une téniaose. Les formes larvaires qui prennent le nom de cysticerques,

Figure 1.37 : le cycle des trichines.



de cystercoides, d'hydatides en fonction de l'espèce infestante donnent lieu à des cysticercoses, des échinococcoses, des cénuroses et des sparganoses. Dans la cavité buccale, ce sont essentiellement les cysticercoses et les échinococcoses qui ont été décrites.

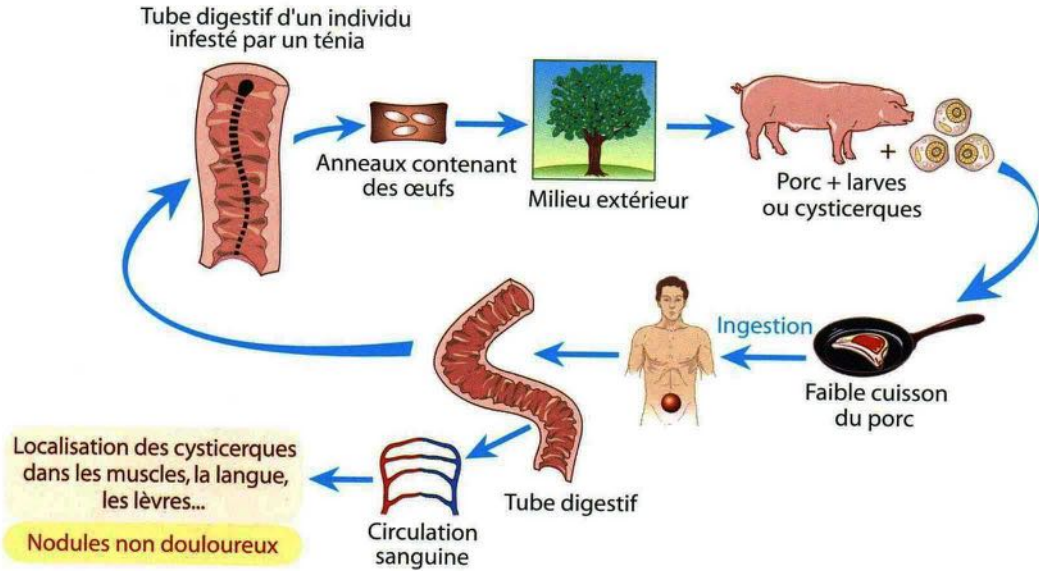
Larve cysticerque de *Tænia solium*

Les larves de *Tænia solium* et plus rarement de *T. saginata* sont responsables de cysticercoses. Dans de rares circonstances et généralement dans des conditions de pauvreté ou d'hygiène précaire, l'homme ingère les œufs ou des anneaux du parasite soit dans les aliments souillés ou sur des mains souillées de fèces humains. Exceptionnellement, il peut s'auto-infecter s'il héberge un *T. solium* adulte dont un ou plusieurs anneaux remontent du grêle dans l'estomac, où leur lyse libère les embryons qu'ils contiennent. Dans les deux cas, les embryons circulent dans le sang, se transforment en larves (cysticerques). Ces cysticerques nombreux se localisent surtout au niveau des muscles, de la peau, de l'œil, et du système nerveux central (Figure 1.38). Les cysticercoses sont généralement des pathologies bénignes, seules des complications sévères ont été décrites particulièrement dans les localisations cérébrales et oculaires.

Larve d'*Echinococcus granulosus*

La forme larvaire d'*Echinococcus granulosus* est responsable de l'échinococcose (maladie hydatique), une parasitose qui atteint l'homme et certains animaux. Ce parasite vit à l'état adulte dans le tube digestif de carnivores notamment le chien. *E. granulosus* est un petit ver plat de 5 mm de long. Comme les autres ténias, les derniers anneaux du ver libèrent les œufs qui souillent le sol, les végétaux et le pelage du porteur. L'œuf qui survit longtemps est ingéré par un hôte intermédiaire (mouton essentiellement) et libère dans le tube digestif un embryon qui se transforme en larve ou hydatide. L'hydatide se développe et renferme à terme plusieurs milliers d'éléments infestants appelés protos-

Figure 1.38 : le cycle des cysticerques.



colex. Libérés dans la nature, l'ingestion des protoscolex par l'hôte définitif comme le chien aboutira à la naissance de ténias qui deviendront adultes en quelques semaines.

Seule la forme larvaire est trouvée chez l'homme qui constitue une impasse parasitaire et qui représente un hôte intermédiaire accidentel (Figure 1.39). L'infection entraîne la formation de kystes hydatiques. Elle est considérée comme sérieuse et peut être fatale. Comme les chiens sont les animaux de compagnie les plus représentés, l'homme peut être infecté par ingestion accidentelle d'œufs.

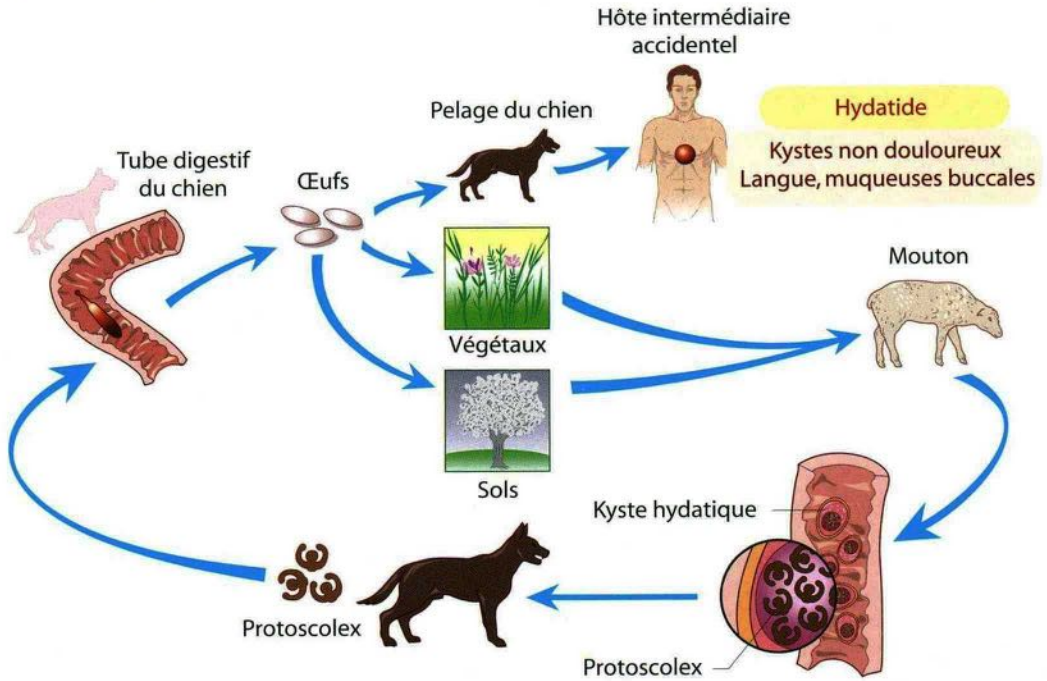
Larve de *Spirometra*

Spirometra spp. appartient à la famille des Diphyllbothriidae de l'ordre des Pseudophyllidés. *Spirometra* est un vert plat. Sa larve est responsable de sparganoses. La sparganose de l'homme est considérée comme un transport accidentel de l'hôte. La maladie est endémique en Asie de l'Est et du Sud y compris la Thaïlande. Les modes de transmission incluent l'ingestion de cyclops infectés contenant le procercoïde ou l'ingestion du cercoïde en mangeant la chair crue d'un animal comme la grenouille ou le reptile, ou l'application locale de la chair d'un animal infecté sur la peau, les conjonctives ou le vagin (pratique asiatique pour guérir les inflammations). En fonction du stade de développement de la larve contaminante, la maladie se développera ou non. Lorsque le parasite sous forme larvaire est ingéré, il traverse la barrière intestinale et migre dans les tissus, habituellement les tissus sous-cutanés.

Parasites eucaryotes

Les parasites eucaryotes anciennement classés dans les protozoaires sont considérés comme un embranchement (ou un sous-règne par opposition aux métazoaires) du règne animal (amibes, amibiens, foraminifères...).

Figure 1.39 : le cycle des echinococcus.



Ces parasites infectent tous les vertébrés et la plupart des invertébrés. Ils ont une influence majeure sur l'existence de l'homme. Ces organismes sont mobiles et peuvent être regroupés selon leur mode de locomotion tel que les cils, les flagelles et les pseudopodes. Ils se répliquent chez leur hôte et peuvent produire des centaines de milliers de parasites en quelques jours après l'infection.

Entamoeba gingivalis

Entamoeba gingivalis est un parasite eucaryote unicellulaire rhizopode c'est-à-dire qui se déplace grâce à des pseudopodes. Il existe chez l'homme dans la cavité buccale sous forme végétative. Sa taille est inférieure à $8\mu\text{m}$. Il n'est pas hématophage.

Trichomonas tenax

Trichomonas tenax est un parasite eucaryote flagellé. Il est classé dans le même genre que *Trichomonas vaginalis*. Bien que ce dernier soit très étudié, peu de documents existent sur *T. tenax*. *In vitro*, il a récemment été montré que *T. tenax* est capable de synthétiser et de sécréter plusieurs protéinases dont celles responsables de la dégradation des collagènes. Des activités hémolytine ont été observées sur des fractions cellulaires et des surnageants de culture.

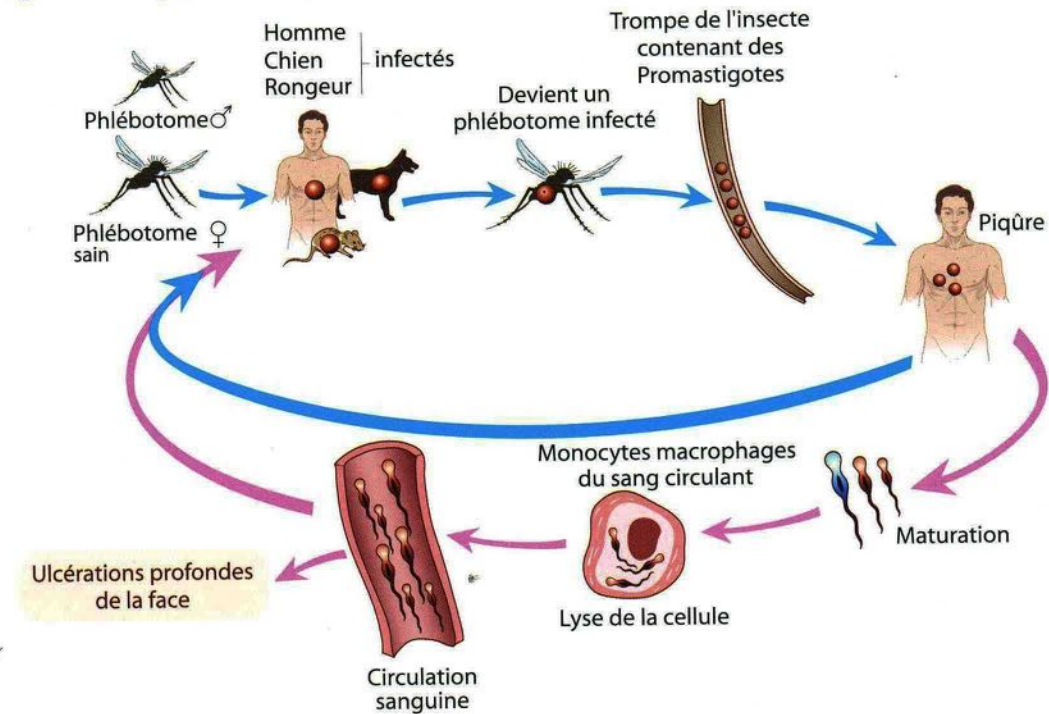
Leishmanias

Les *leishmanias* sont des parasites flagellés qui se présentent sous deux formes différentes : *leishmania* et *leptomonas*.

La forme *leishmania* ou amastigote, immobile, parasite les cellules histiocytaires de l'homme et de certains vertébrés. La forme *leptomonas* ou promastigote est allongée, mobile avec un flagelle. Elle n'apparaît que dans les cultures et chez l'insecte vecteur.

La leishmaniose est transmise par la piqûre d'un phlébotome, insecte de très petite taille (3 mm). Chez le phlébotome infecté, les formes amastigotes se transforment très vite en promastigotes qui se multiplient dans le tube digestif de l'arthropode. Dans des conditions de température élevée, les promastigotes sont présents en grand nombre dans la trompe et le pharynx. Seule la femelle est hématophage. Les leishmanies déposées dans la circulation lors de la piqûre envahissent les monocytes ou histiocytes de l'homme ou des animaux. Les cellules sont distendues et finissent par éclater libérant les leishmanies. La piqûre d'un individu infesté (l'homme ou animal) sera contaminante. Les leishmanies présentes dans les cellules circulantes sont absorbées par le phlébotome femelle. L'écrasement de l'insecte libère également les leishmanies qu'il contient (Figure 1.40). Les leishmanies sont responsables de leishmaniose. Les leishmanioses regroupent un large éventail de maladies parasitaires dont il existe plusieurs formes : leishmaniose viscérale, leishmaniose cutanée, leishmaniose cutanéomuqueuse.

Figure 1.40 : le cycle des leishmanies.



Vraisemblablement plusieurs espèces pathogènes sont responsables de la diversité des symptômes. Actuellement, dix-sept espèces sont répertoriées. Leurs facteurs de virulence sont en cours d'investigation. Pour la forme viscérale, la leishmaniose est devenue dans certains pays un problème sanitaire d'urgence : Éthiopie, Soudan, Érythrée où la maladie est endémique depuis quelques années. En

l'absence de diagnostic et de traitements, la mortalité est de 100 %. Sous traitement, elle reste de 10 %. En raison des « immigrations », 39 cas de leishmanioses ont été observés en France : 35 voyageurs français et 4 émigrants.

Références bibliographiques

- Aliaga L, Cobo F, Mediavilla JD, Bravo J, Osuna A, Amador JM, et al. : Localized mucosal leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) infantum* : clinical and microbiologic findings in 31 patients. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82 : 147-58.
- Anofel : *Parasitologie - Mycologie 7^e édition*, 2002, Collections Références, Format utile, Paris.
- Ataoglu H, Uckan S, Oz G, Altinors N : Maxillofacial hydatid cyst. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60 : 454-6.
- Bhatt AP, Jayakrishnan A. Oral myiasis : a case report. *Int J Paediatr Dent* 2000; 10(1) : 67-70.
- Bruschi F, Murrell KD : New aspects of human trichinellosis: the impact of new *Trichinella* species. *Postgrad Med J* 2002; 78 : 15-22.
- de Souza PE, Barreto DC, Fonseca LM, de Paula AM, Silva EC, Gomez RS : Cysticercosis of the oral cavity: report of seven cases. *Oral Dis* 2000; 6 : 253-5.
- Gentilini M, Dufflo B, Lagardère B, Danis M, Richard-Lenoble D : *Médecine tropicale*. Flammarion, Médecine-Sciences, Paris, 1977.
- Gomez RS, Perdigo PF, Pimenta FJ, Rios Leite AC, Tanos de Lacerda JC, Custodio Neto AL : Oral myiasis by screwworm *Cochliomyia hominivorax*. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2003; 41 : 115-6.
- Gursel M, Aldemir OS, Ozgur Z, Ataoglu T : A rare case of gingival myiasis caused by diptera (Calliphoridae). *J Clin Periodontol* 2002; 29 : 777-80.
- Lata J, Kapila BK, Aggarwal P : Oral myiasis. A case report. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996; 25 : 455-6.
- Nigam S, Singh T, Mishra A, Chaturvedi KU : Oral cysticercosis—report of six cases. *Head Neck* 2001; 23 : 497-9.
- Peters W, Pasvol G : *Médecine tropicale et parasitologie*. Flammarion, Paris.
- Reddi SP, Morales MJ, Addante RR : Solitary lesion in the masseter muscle. *J Oral Maxillofac Surg* 2001; 59 : 71-5.
- Richards R : *Introduction à la parasitologie*. Vigot, Paris, 1995.
- Rousset JJ : *Maladie parasitaire*. Masson, Paris, 1995.
- Saran RK, Rattan V, Rajwanshi A, Nijkawan R, Gupta SK : Cysticercosis of the oral cavity: report of five cases and a review of literature. *Int J Paediatr Dent* 1998; 8 : 273-8.
- Sharquie KE, Najim RA : Disseminated cutaneous leishmaniasis. *Saudi Med J* 2004; 25 : 951-4.
- Shinohara EH : Re : treatment of oral myiasis with ivermectin. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2003; 41 : 421.
- Van Damme PA, Keuter M, Van Assen S, DeWilde PC, Beckers PJ : A rare case of oral leishmaniasis. *Lancet Infect Dis* 2004; 4 : 53.

Les agents transmissibles non conventionnels ou prions (M. Bonnaure-Mallet)

Les agents transmissibles non conventionnels (ATNC) ou prions ne sont pas responsables de pathologies bucco-dentaires à proprement parler. Cependant, compte tenu de leur mode de transmission non conventionnel, tous les professionnels de santé sont concernés, par les processus de décontamination-désinfection-stérilisation à mettre en œuvre aujourd'hui pour lutter contre leur transmission.

Généralités

Les ATNC ou prions (*protein infection*) sont à l'origine de maladies neurodégénératives : les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) chez l'homme et chez l'animal. Ces maladies sont constamment mortelles. Elles se caractérisent par une longue période d'incubation cliniquement silencieuse. Chez l'homme, les ESST prennent le nom de Kuru, de maladie de Creutzfeldt-Jacob (MCJ), de syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (SGSS) et d'insomnie fatale familiale (IFF). Chez l'animal, les ESST comprennent la tremblante naturelle du mouton et de la chèvre, la maladie de dépérissement chronique des ruminants sauvages, l'encéphalopathie spongiforme bovine, féline et l'encéphalopathie transmissible du vison.

Chez les sujets atteints, le système nerveux central montre l'association d'une vacuolisation neuronale (spongiose), d'une perte neuronale et d'une gliose. La seule anomalie détectable et spécifique est l'accumulation d'une forme anormale d'une protéine de l'hôte.

Le trait caractéristique des maladies à prion serait donc la modification structurale d'une protéine du prion, notée PrP ou PrP^c (c pour cellulaire). Chez l'individu atteint, la PrP s'accumule dans les cellules sous une forme pathologique avec un fragment résistant aux enzymes de dégradation des protéines. On parle de PrP^{sc} pour la forme anormale (sc pour scrapie, scrapie étant le terme anglais pour la tremblante du mouton) et PrP^{res} pour son fragment résistant à la digestion par la protéinase K.

Origine des ATNC

La PrP est codée par un gène présent en une seule copie dans le génome situé sur le bras court du chromosome 20 chez l'homme. Ce gène nommé *Prnp* est simple avec deux exons séparés par un intron de 10 kilobases. Toute la séquence est contenue dans le deuxième exon et donc le mécanisme d'expression du gène est peu sophistiqué. Le gène *Prnp* est majoritairement exprimé par les neurones. Il est aussi exprimé par les cellules gliales et par les cellules immunocompétentes. Le gène n'intervient pas dans le processus qui va conduire à l'accumulation de la protéine puisqu'il n'est pas surexprimé chez les modèles animaux atteints. De plus, la très grande majorité des essais de purification de l'agent transmissible a conclu à l'absence d'acides nucléiques spécifiques dans les fractions infectieuses.

La protéine PrP a un poids moléculaire de 36 kiloDalton chez l'homme et comprend 253 acides aminés. Elle comprend deux sites putatifs de glycosylation, la protéine peut donc se présenter sous forme non glycosylée, monoglycosylée ou biglycosylée. Sa portion terminale comporte le site d'ancrage d'un glycosylphosphatidyl inositol (GPI) qui permet l'ancrage de la protéine à la face externe de la membrane plasmique. C'est une protéine membranaire qui peut servir soit de récepteur pour un signal moléculaire, soit de molécule d'interaction avec la matrice extracellulaire.

Chez l'animal, il a été montré que la protéine qui s'accumule chez le sujet infesté a exactement la même séquence primaire que la protéine dont le sujet était porteur avant son infection. Il n'y a donc pas de mutation somatique de la protéine à l'origine de la maladie.

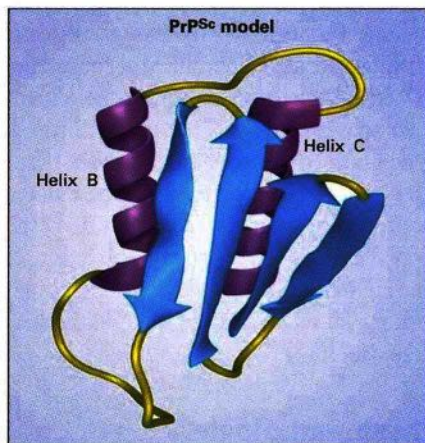
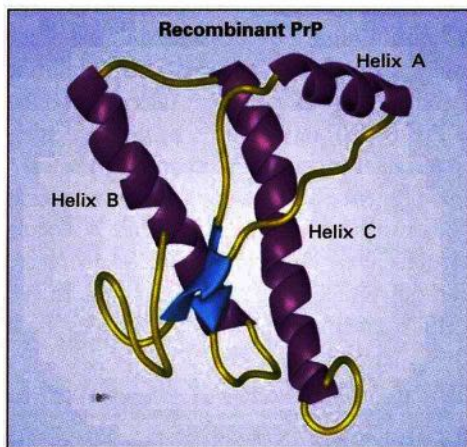
En revanche, les expérimentations de protéolyse mettent en évidence que la protéine PrP anormale est résistante à la protéolyse par les enzymes protéolytiques telles que la protéinase K.

Cette résistance à la protéolyse serait due à une différence de conformation secondaire et tertiaire de la protéine.

Les méthodes biophysiques ont permis de montrer que le contenu en hélice et en feuillets bêta plissés était différent dans la protéine normale et la protéine anormale. La structure secondaire de la protéine PrP est majoritairement en hélices alpha et celle de la protéine anormale en feuillets bêta plissés. La structure tridimensionnelle de la PrP normale de souris a été déterminée par RMN. La structure 3D de la protéine anormale n'est pas connue. Les modèles de changement de conformation le plus couramment admis sont, dans le modèle de la PrP anormale, l'apparition de 4 feuillets bêta plissés et la disparition d'une des trois hélices alpha. Certains auteurs proposent aussi la formation d'une hélice bêta. L'anomalie est donc post-transcriptionnelle (Figure 1.41). Le mécanisme de cette anomalie est encore mal élucidé.

Il est suggéré que chez le sujet atteint, la PrP anormale s'accouplerait avec la protéine normale et obligerait cette dernière à changer de conformation. Ce changement se fait par simple contact et le phénomène appelé « transconformation » assure la propagation de la conformation pathologique.

Figure 1.41 : schéma de la protéine prion.



Propriétés physico-chimiques des ATNC et résistance

La nature exacte des ATNC n'est toujours pas connue avec précision. Par des expériences d'ultrafiltration, la taille des ATNC a pu être estimée entre 15 et 40 nm. La résistance à la chaleur des ATNC est exceptionnelle pour un agent infectieux, ce qui nécessite des conditions particulières de stérilisation (§ Prévention).

La PrP anormale est résistante à la protéinase K et aux ultrasons.

En présence de détergents, la PrP anormale est capable de polymériser sous forme de fibrilles spécifiques, les « *Scrapies Associated Fibrils* » (SAF) ou prions « rods ».

Les ATNC peuvent rester contaminants dans l'environnement ou sur les instruments chirurgicaux (neurochirurgie) pendant des années.

Rôle des PrP

Il est inconnu. La protéine PrP est suspectée avoir un rôle dans l'alternance des rythmes veille-sommeil, dans le vieillissement des cellules de Purkinje du cervelet, dans les transmissions synaptiques et signaux moléculaires à la cellule et dans la compensation du stress oxydatif du fait de sa capacité à fixer le cuivre.

Propagation

Deux hypothèses cohabitent pour expliquer la propagation de l'agent infectieux pendant la longue phase d'incubation asymptomatique :

- Un génome indépendant : la présence d'un virus conventionnel est hautement improbable ; la possibilité d'un acide nucléique protégé par une coque protectrice constituée de PrP anormale (analogue d'une PrP de l'hôte) qui lui permet d'échapper aux mécanismes du système immunitaire est également improbable. À ce jour, aucune information génétique indépendante n'a été mise en évidence dans les fractions infectieuses, quel que soit l'ESST considéré.
- Une composition exclusivement protéique de l'agent : cette hypothèse reste controversée. Le concept de prion a été proposé par Prusiner dès les années quatre-vingts. Les ESST seraient la conséquence d'une anomalie de structure tridimensionnelle de la PrP qui conduit à un désordre du catabolisme protéique, lequel entraîne l'accumulation de la PrP anormale dans le système nerveux central. Il reste à être formellement prouvé que les unités infectieuses consistent principalement ou exclusivement en sous-espèces de PrP^{sc} ou en forme intermédiaire de PrP (PrP*), ou en autres protéines dérivées de l'hôte, ou encore en composés non protéiques qui pourraient inclure les glycoaminoglycanes.

Quoi qu'il en soit, pendant la phase muette, la réplication de l'agent est détectable dans certains tissus dont la nature varie en fonction de l'espèce, de l'hôte, de la souche de prion et de la voie d'inoculation. Les sites où se trouve l'infection chez les sujets naturellement ou expérimentalement infectés ont été répertoriés et classés en trois catégories en fonction du risque. Cette classification est en évolution, la recherche de PrP anormale n'étant pas définitivement établie pour tous les tissus (Tableau 1.15).

Physiopathologie

Les ESST ont une longue période cliniquement asymptomatique (jusqu'à 40 ans chez l'homme). La nature des tissus atteints varie en fonction de l'espèce hôte, de la voie d'inoculation et de l'agent contaminant.

L'infectiosité apparaît d'abord au niveau des cellules mononucléées du sang périphérique et des organes hématopoïétiques (système réticulo-endothélial) pour s'étendre par voie nerveuse jusqu'à l'encéphale.

Tableau 1.15 : risque infectieux des différents tissus ou organes d'un animal ou d'un individu atteint d'ESST* (d'après Le Faou A, 2003).

Risque élevé
1. Système nerveux central y compris l'hypophyse, la dure-mère et le liquide céphalo-rachidien ; la colonne vertébrale avec le canal rachidien.
2. Œil et nerf optique.
3. Formations lymphoïdes avec centre germinatif : rate, nœuds lymphatiques, tonsilles, appendice, plaques de Peyer et formations équivalentes du gros intestin, du rectum et du carrefour aéro-digestif.
4. L'OMS précise que des précautions particulières doivent être prises lors d'actes dentaires majeurs.
Faible risque
Poumon, rein, foie, pancréas, placenta.
Le sang est considéré comme étant à faible risque de transmission si tant est que ce risque existe.
Risque non démontré
Muscles squelettiques, tissus adipeux, appareils génitaux, lait, colostrum, sérum, urines, fèces.

* Ce tableau est en cours d'évolution : ainsi, le muscle sera peut-être mis dans la catégorie 2 compte tenu de la découverte récente de la PrP anormale dans les muscles chez des patients atteints de pathologies neuromusculaires (Kovacs *et al.*, 2004).

NB : le risque est estimé pour l'ensemble des espèces, mais il existe des différences : chez les ovins infectés, les organes lymphoïdes sont à risque élevé et, concernant le nvMCJ, les prions sont mis en évidence dans les formations lymphoïdes, ce qui n'est pas le cas au cours de la MCJ sporadique.

L'accumulation de la PrP anormale entraînerait la mort neuronale. Les PrP anormales se trouvent dans le milieu extracellulaire et contaminent les PrP normales de proche en proche. Il s'ensuit des dommages neuronaux avec activation des astrocytes et des cellules microgliales. Aucune réaction immunitaire, inflammatoire ou autre n'est décelable.

Formes cliniques

Le Kuru

C'est une maladie épidémique transmise lors de rites funéraires. Elle débute par une ataxie cérébelleuse associée à un fin tremblement des extrémités et de la tête qui se majore à l'effort. L'évolution se fait dans un état grabataire et la mort survient en 1 an au plus par des complications infectieuses liées au décubitus.

La maladie de Creutzfeldt-Jacob (MCJ)

Elle se présente sous trois formes épidémiologiques

- Une forme sporadique, c'est-à-dire sans lien identifié entre les patients et sans lien identifié entre les patients et l'environnement. Cette forme représente 90 % au moins des cas de MCJ. Dans la MCJ sporadique, la majorité des patients sont porteurs du polymorphisme Met/Met ou Val/Val au codon 129 du gène *Pnnp*, soit 80 % d'homozygotes contre 50 % dans la population générale.
- Une forme familiale (5 à 10 %). Ce sont des maladies génétiques et les mutations qui en sont à l'origine ont été identifiées. La MCJ est le plus souvent associée par ordre de fréquence à une mutation au codon 200, puis 210, puis 178. D'autres mutations sont observées de façon plus rare.
- Les cas iatrogéniques.

À la phase d'état, la démence est présente dans 100 % des cas, les signes associés sont le plus souvent une ataxie cérébelleuse, un syndrome pyramidal, un syndrome extrapyramidal et des myoclonies. L'apparition de myoclonies chez un sujet qui a entre 60 et 70 ans et dont l'état mental se détériore en dehors de tout contexte fébrile doit faire évoquer le diagnostic de MCJ.

La nouvelle variante de MCJ (vMCJ)

Elle a été décrite en 1995 chez 10 patients britanniques de moins de 40 ans, 6 cas ont été répertoriés en 2002 en France.

Le début de la maladie commence par une dépression, voire un état schizoïde. L'ataxie cérébelleuse apparaît souvent accompagnée d'un syndrome pyramidal et extrapyramidal. L'évolution se fait vers le coma et la mort en 14 mois en moyenne.

Le syndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker (SGSS)

C'est une affection familiale de la 3^e décennie qui se manifeste par une ataxie cérébelleuse, des troubles de la déglutition et de la phonation. Cette maladie évolue vers un état grabataire et une démence. La durée de la maladie est variable et peut excéder 50 mois.

L'incidence est faible (< 1 % des MCJ).

L'insomnie fatale familiale (IFF)

Il s'agit d'une maladie de description récente. Seulement une vingtaine de cas sont décrits dans le monde. L'insomnie est rebelle à tout traitement. Elle s'accompagne de signes de dysarthries, d'ataxie. L'évolution se fait vers un état stuporeux et un coma. La mort survient en 13 mois en moyenne.

Diagnostic

Le diagnostic de certitude est post mortem par examen neuropathologique. C'est la mise en évidence des signes cardinaux des ESST (spongiose, gliose de type astrocytaire, perte neuronale) associée à la détection par immunohistochimie de la PrP anormale qui permet d'affirmer le diagnostic. Du vivant du patient, en dehors de la biopsie cérébrale, la présence d'anomalies pseudo-périodiques à l'EEG ou la présence de la protéine 14-3-3 (marqueur biologique de diagnostic de MCJ) détectable dans le LCR sont des indicateurs forts, avec la NSE (*Neuron Specific Enolase*) associés au tableau clinique. Dans les formes familiales, la mise en évidence d'une mutation dans le gène *Prnp* est un argument puissant du diagnostic. La détection de la PrP anormale dans les organes lymphoïdes (amygdales, ganglions ou appendice) signe quasiment le diagnostic et, la présence de signaux hyperdenses dans la pulvinar à l'IRM peut être considérée comme évocatrice dans un contexte clinique compatible.

Traitement

Il n'existe pas à ce jour de ressources thérapeutiques chez l'homme. Un certain nombre de médicaments a été évalué. Ce sont les polyanions, minéraux ou organiques, le rouge Congo, les porphyrines, le phtalocyarine et l'iodoxorubicine qui agissent sur la conformation de la PrP anormale.

Les dérivés d'antibiotiques polyéniques (amphotéricine B) dont l'action est inconnue ont été évalués. Ils demandent à être administrés très tôt, ce qui est actuellement impossible chez l'homme compte tenu du manque de marqueurs de la maladie à son stade initial.

Des stratégies novatrices sont actuellement proposées comme des molécules susceptibles de « défrapper » les dépôts de PrP anormale (*beta sheet breakers*).

Épidémiologie

Les maladies à prions ont une incidence moyenne annuelle de 1,0 à 1,5 cas environ par million d'habitants. Il s'agit de maladies rares sous haute surveillance. Depuis 1996, en France, toute suspicion de MCJ doit faire l'objet d'une déclaration obligatoire auprès de la DASS (décret 96-838 du 19 septembre 1996 publié au JO le 24 septembre 1996).

Pour le suivi épidémiologique, les maladies à prions sont classées suivant le processus conduisant à la formation de la protéine anormale : i) l'introduction accidentelle de la PrP anormale dans l'organisme est responsable des formes acquises, ii) des anomalies du gène *Pnnp* induisent les formes génétiques, iii) une conversion aléatoire de la PrP normale en PrP anormale est supposée dans les formes sporadiques qui sont les plus fréquentes.

Dans les formes sporadiques, la MCJ représente 80 à 85 % des maladies à prions. Dans les pays qui participent au réseau de surveillance, l'incidence n'évolue pas (<http://www.eurocjd.ed.ac.uk/>).

Les formes génétiques induites par la mutation ou l'insertion d'un nucléotide sur le gène *Pnnp* se transmettent selon le mode autosomique dominant. Ces formes représentent 10 à 15 % des maladies à prion. Seule l'étude du gène permet de déterminer l'anomalie génétique et conduit au diagnostic de la maladie (<http://organicconsumers.org/madcow.htm>).

Au total, dans les cas de forme génétique, les analyses moléculaires permettent d'identifier des mutations, des délétions, des insertions et un polymorphisme particulier du codon 129. Pour certains auteurs, la position des mutations conditionnerait l'évolutivité et la symptomatologie clinique. Une ou plusieurs anomalies du gène *Pnnp* conditionneraient une configuration spatiale de la PrP plus propice à la transconformation.

Pour les formes acquises, toutes les ESST sont expérimentalement transmissibles, y compris les formes familiales. Certaines voies d'inoculation ont des efficacités différentes. La voie d'inoculation intracérébrale est la plus efficace. La voie intraveineuse vient juste après. Quant à la voie orale, elle est 125 000 fois moins efficace que la voie intracérébrale. Ceci a des implications importantes en milieu hospitalier.

Des contaminations accidentelles ont été décrites :

- Utilisation d'électrodes profondes de stéréotaxie (2 cas).
- Accident lié à des instruments de neurochirurgie (5 cas).
- Greffe de cornée (3 cas).
- Greffe de dure-mère (> 110 cas).
- Produits biologiques extraits (exemple hormone de croissance extractive (> 130 cas)).

La souche d'ATNC responsable de l'ESB a contaminé un grand nombre d'animaux par voie alimentaire, par recyclage des farines de viandes et d'os. Depuis 1996, de nombreux cas de vMCJ ont été décrits liés à la contamination humaine par l'agent de l'ESB. La vMCJ représenterait 1/3 des cas des ESST au Royaume-Uni. Le franchissement de la barrière d'espèce dépend de la distance génétique entre les espèces considérées et des propriétés spécifiques de l'agent contaminant.

En France, entre 1992 et 2002, 991 cas de MCJ ont été identifiés (81,2 % sporadiques, 9,0 % génétiques, 9,2 % iatrogènes et 0,6 % (N = 6) vMCJ dues à l'agent de l'ESB). La MCJ sporadique est exceptionnelle avant 50 ans et augmente ensuite pour atteindre un pic entre 70 et 79 ans (âge moyen : 68,4 ans; intervalle 24-90). L'incidence annuelle de la MCJ sporadique est passée de 0,72 cas par million d'habitants en 1992 à 1,80 en 2002. Cette augmentation ne s'observe qu'à partir de 60 ans

et est particulièrement forte pour la tranche d'âge 80-89 ans. La fréquence des trois génotypes (Met/Met, Val/Val, Met/Val) du codon 129 du gène de la protéine prion a varié au cours du temps : diminution régulière des cas sporadiques Met/Met et augmentation parallèle des Val/Val. La distribution géographique de la MCJ sporadique est statistiquement hétérogène et deux petits clusters de 3 cas ont été mis en évidence ; aucun lien évident entre les cas de chaque cluster n'a été identifié (<http://www.invs.sante.fr/>).

Prévention

Prévention de la transmission interhumaine : (Tableau 1.16)

La prévention de la transmission interhumaine des ATNC s'effectue à deux niveaux.

Par la mise en place de procédures de décontamination-stérilisation aptes à inactiver les ATNC (recommandations OMS). Cette mise en place concerne toutes les professions de santé. En médecine humaine, les procédures d'inactivation des prions compatibles avec un niveau de prévention acceptable sont :

- Le traitement à la soude 1 M pendant une heure à température ambiante.
- Le traitement à l'hypochlorite de sodium pendant une heure à température ambiante.
- L'autoclavage à 134 °C – 136 °C pendant 18 minutes.
- Le traitement avec un détergent enzymatique associé à une vaporisation de peroxyde d'hydrogène.

Par le contrôle des sources et des procédés de fabrication des médicaments dérivés de tissus ou d'organes humains (par exemple : nanofiltration (15 mm) des dérivés plasmatiques et leucodéplétion des dons de sang).

Tableau 1.16 : les procédés de désinfection et les ATNC (d'après Le Faou A, 2003 ; modifié Fichet et coll. 2004).

Pour inactiver les prions :	
• sont inefficaces	
- Chaleur sèche.	
- Éthanol.	
- Formaldéhyde gazeux ou en solution, glutaraldéhyde.	
• sont partiellement efficaces	
- Autoclave à 121 °C, 30 min.	
- Acide peracétique, 15 min.	
- Hypochlorite de sodium à 0,5 % de chlore actif, 15 min.	
• ont une efficacité importante, par ordre décroissant	
- Hypochlorite de sodium à 2% de chlore actif, 1 heure.	
- Soude N, 1 heure.	
- Détergent enzymatique et vaporisation de peroxyde d'hydrogène.	
- Autoclave à 134 °C, 18 min.	
• a une efficacité maximale	
- Autoclave à déplacement de gravité à 121 °C, 30 min dans un bain de soude N.	

NB : l'incinération à plus de 800 °C permet la destruction complète des prions.

Prévention de la transmission alimentaire

La prévention de la contamination par voie alimentaire est obtenue par la mise en place dans les abattoirs des tests de dépistages de l'agent de l'ESB chez les bovins et les ovins, et retrait de la chaîne alimentaire des organes à risque (abats, cervelle, moelle épinière).

Les maladies à prions sont donc des maladies émergentes avec des risques de santé publique difficilement mesurables. Seules les mises en pratique des mesures de prévention peuvent enrayer l'épidémie à venir.

Références bibliographiques

- Aguzzi A, Heikenwalder M, Miele G : Progress and problems in the biology, diagnostics, and therapeutics of prion diseases. *J Clin Invest* 2004; 114 : 153-160.
- Dormont D : Les agents transmissibles non conventionnels ou prions. p. 601-616 In : Mammette A. eds. : *Virologie médicale*. Presses Universitaires de Lyon, Lyon, 2000.
- Eghiaian F, Grosclaude J, Lesceu S, Debey P, Doublet B, Treguer E, Rezaei H, Knossow M : Insight into the PrPC→PrPSc conversion from the structures of antibody-bound ovine prion scrapie-susceptibility variants. *Proc Natl Acad Sci* 2004; U S A 101 : 10254-10259.
- Fichet G, Comoy E, Duval C, Antloga K, Dehen C, Charbonnier A, McDonnell G, Brown P, Lasmezas CI, Deslys JP : Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices. *Lancet* 2004; 364 : 521-526.
- Govaerts C., Wille H., Prusiner S.B., Cohen F.E., 2004. Evidence for assembly of prions with left-handed beta-helices into trimers. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A* 101 : 8342-8347.
- Kovacs GG, Kaley O, Gelpi E, Haberler C, Wanschitz J, Strohschneider M, Molnar MJ, Laszlo L, Budka H : The prion protein in human neuromuscular diseases. *J Pathol* 2004; 204 : 241-247.
- Le Faou A : Infections à prions et santé publique. *Bulletin de la Société Française de Microbiologie* 2003; 18:18-23.
- Prusiner SB : Shattuck lecture - neurodegenerative diseases and prions. *N Engl J Med* 2001; 344 : 1516-1526.

Écosystème buccal

Présentation générale des biofilms132
Les biofilms buccaux141

La flore buccale au cours de la vie161
Interactions flore-hôte165

Présentation générale des biofilms

(P. Gracieux, J.-C. Robert, M. Bonnaure-Mallet)

La première description d'un biofilm date du XVII^e siècle, lorsque Van Leeuwenhoek a examiné les « animalcules » présents à la surface de ses dents. La notion de biofilm actuelle n'est apparue qu'à la fin des années soixante-dix. Le biofilm se définit comme un film de micro-organismes, d'une ou de plusieurs espèces, adhérant à une surface submergée ou soumise à un environnement aqueux. Ces cellules microbiennes se développent dans une matrice formée de biopolymères, principalement des polysides et aussi des protéines et des acides nucléiques, excrétés par certains des micro-organismes à divers moments de leur cycle cellulaire. Cette matrice, fortement hydratée, permet la survie des micro-organismes et favorise leur nutrition et leur développement notamment en milieu oligotrophe en piégeant les nutriments. Au sein de la matrice, les micro-organismes forment plusieurs couches successives. L'architecture complexe qui en résulte ne se forme pas au hasard. Elle dépend des affinités de co-adhésion des différents micro-organismes entre eux. La biodiversité des micro-organismes et la capacité d'adhésion de certains d'entre eux font que toutes les surfaces sont susceptibles d'être colonisées quels que soient les environnements et les conditions physico-chimiques. Le biofilm est une structure dynamique. Il évolue avec les variations des conditions physico-chimiques externes et les métabolismes microbiens. En conséquence, le biofilm est soumis à une succession de flore au cours de son développement.

Formation d'un biofilm

Le développement d'un biofilm suit cinq étapes (Figures 2.1 et 2.2). La première est l'attachement initial des cellules à la surface. Ensuite, les cellules excrètent la matrice extracellulaire conduisant à l'adhésion irréversible. La troisième étape est la formation d'une micro-colonie qui est un agrégat cellulaire composé des micro-organismes adhérents qui se sont multipliés et qui ont servi de point d'ancrage à d'autres micro-organismes par des mécanismes de co-adhésion. Vient ensuite l'étape de maturation du biofilm qui se traduit par un accroissement du biofilm dû à la division cellulaire et à la co-adhésion de nouvelles cellules. La maturation forme une architecture particulière avec la formation de canaux internes, de pores et la redistribution des cellules à l'intérieur du biofilm. Enfin, lors de la dernière étape, certaines des cellules du biofilm se détachent, en réponse aux conditions physico-chimiques de l'environnement, pour coloniser de nouvelles surfaces ou se développer dans le milieu liquide environnant. Ces micro-organismes sont dits planctoniques.

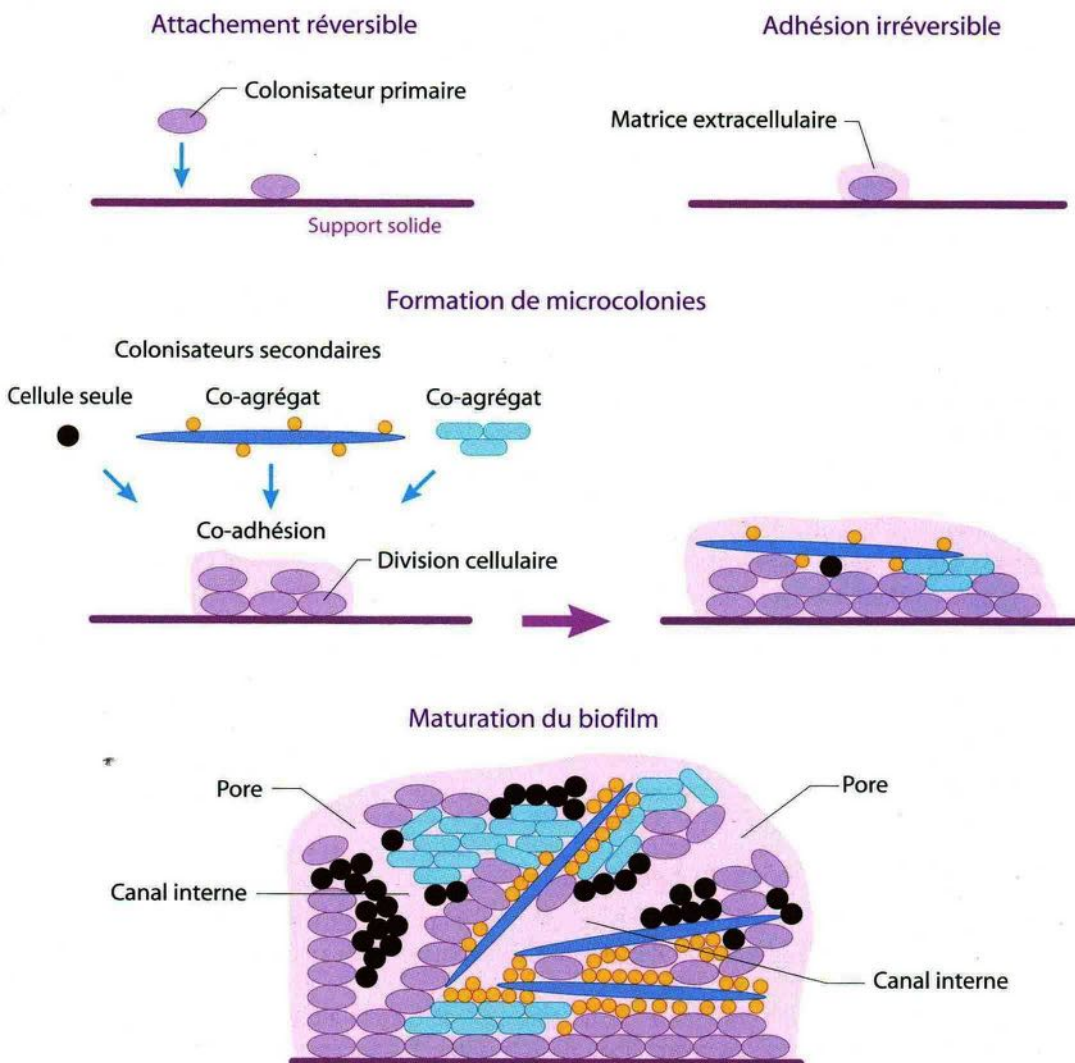
Attachement et adhérence des micro-organismes au support

Des cellules microbiennes individualisées s'attachent au support de manière réversible. Ce sont les colonisateurs primaires ou précoces. L'attachement des micro-organismes aux surfaces abiotiques est dû à la prévalence des forces attractives sur les forces répulsives entre les deux éléments. En effet, l'attraction et la répulsion des micro-organismes et des surfaces sont générées par des interactions non spécifiques telles que les interactions électrostatiques et hydrophobes, les forces hydrodynamiques... Bien que les forces électrostatiques conduisent à la répulsion des micro-organismes et des surfaces abiotiques, tous deux chargés négativement, les interactions hydrophobes vont quant à elles favoriser et même être les principales forces pour l'attachement. Ces cellules adhérentes ne sont pas encore engagées, du point de vue métabolique, dans le processus de formation du biofilm. Elles peuvent

retourner à un développement planctonique. Cependant, l'attachement à la surface induit l'expression de certains facteurs microbiens responsables de l'adhérence irréversible. Ainsi, durant le quart d'heure qui suit son attachement initial à une surface, *Pseudomonas aeruginosa* active l'expression des gènes impliqués dans la synthèse de l'alginate (polymère linéaire de β -1,4-acide D-mannuronique). C'est le principal biopolymère qui compose la matrice extracellulaire des biofilms formés par la bactérie. La synthèse du biopolymère renforce l'attachement de la bactérie à la surface et conduit à son adhérence irréversible.

L'adhérence irréversible est également due à des modifications physiologiques. Par exemple, *Pseudomonas putida* modifie ses organites de surface. Pour se mouvoir dans l'environnement liquide,

Figure 2.1 : représentation schématique de la formation d'un biofilm.



P. putida exprime des flagelles. Ils sont remplacés, lorsque la bactérie s'attache à une surface solide, par des *pili* de type IV qui sont des organites permettant l'adhérence bactérienne. Un autre exemple est *Staphylococcus epidermidis*. L'adhérence de la bactérie à une surface induit l'expression d'adhésines intercellulaires de nature polysidique.

Formation des micro-colonies et développement du biofilm

Les adhésines exprimées par les colonisateurs primaires ou pionniers permettent à de nouveaux micro-organismes d'adhérer, on parle alors de co-adhésion. C'est par ce mécanisme que les micro-colonies se forment et que le biofilm se développe. La co-adhésion des nouveaux micro-organismes, appelés colonisateurs secondaires ou tardifs, se fait selon deux schémas. Le premier est la co-adhésion de cellules planctoniques individualisées. Dans le second cas, ce sont des groupes de cellules ou encore des co-agrégats cellulaires, c'est-à-dire des agrégats formés de plusieurs espèces cellulaires, qui se fixent sur les colonisateurs primaires.

Les interactions intercellulaires sont régies par des récepteurs spécifiques, le développement des micro-colonies ne se fait pas au hasard. La hiérarchisation des interactions conduit à la formation d'une structure tridimensionnelle complexe bien que pendant longtemps les biofilms étaient perçus comme une masse d'organismes non structurée. La détermination de l'architecture complexe du biofilm a été possible par l'utilisation de la microscopie confocale à balayage laser au cours des années quatre-vingt-dix. Des biofilms constitués de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* ou *Vibrio parahaemolyticus* ont été analysés par microscopie confocale à balayage laser. Les biofilms formés par les souches de *Pseudomonas* présentaient une densité cellulaire plus importante dans la zone d'attachement et au centre du biofilm comparé à l'extérieur. En revanche, le biofilm formé par *V. parahaemolyticus* présentait des caractéristiques opposées. Ces caractéristiques propres au biofilm monobactérien ne sont plus retrouvées lors de la formation de biofilms polymicrobiens.

La technique de microscopie a permis de constater que les biofilms sont très hydratés et présentent des structures ouvertes composées principalement par du matériel extracellulaire et des espaces libres. Ces espaces forment des porosités et des canaux qui permettent la diffusion de l'eau et de molécules de faibles poids moléculaires.

La forme générale d'un biofilm est déterminée par l'environnement physico-chimique dans lequel il s'installe. Selon la source des nutriments et la force des flux du milieu environnant, le biofilm peut être aplati ou volumineux avec une forme type champignon dans des eaux stagnantes et une forme filamenteuse dans des eaux courantes. La résistance du biofilm aux courants environnants est déterminée par la matrice extracellulaire produite. Plus les cellules produisent une matrice extracellulaire résistante, plus elles peuvent s'attacher à leur support et poursuivre leur croissance. La production de matrice extracellulaire forte dans un environnement avec un flux important peut former des biofilms filamenteux se réduisant au final à une chaîne constituée de cellules seules. La force du flux du liquide environnant et d'autres facteurs physico-chimiques vont conduire à la dispersion de certaines cellules du biofilm.

Dissémination des cellules du biofilm

Le biofilm est une structure dynamique, les cellules qui le constituent vont se mouvoir en son sein et certaines d'entre elles peuvent s'en détacher. La dissémination des cellules à partir d'un biofilm peut prendre trois formes.

Tout d'abord, l'essaimage qui correspond au détachement de cellules individualisées des micro-colonies après phénomène de lyse du centre de la micro-colonie. Ceci a été observé chez *Staphylococcus*

epidermidis et *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Pour ce dernier qui est une bactérie non mobile, l'essaimage semble un moyen de dissémination. Les bactéries ainsi libérées du biofilm sont portées par le flux du milieu environnant pour coloniser d'autres sites dans la cavité buccale.

Des blocs de cellules peuvent également se détacher d'un biofilm. Dans ce cas, le bloc de cellules dégrade la matrice extracellulaire qui l'entoure et le flux du milieu extérieur le détache du biofilm. Le pathogène humain non mobile *Staphylococcus aureus* a recours à ce processus. Ceci peut expliquer les nombreuses métastases infectieuses observées avec cette bactérie. Le principal avantage de ce procédé de dissémination est que les blocs de micro-organismes qui se détachent conservent les caractéristiques physiologiques des bactéries formant le biofilm tel qu'une résistance élevée aux agents antimicrobiens (Figure 2.2).

Enfin, il existe également un mouvement de l'ensemble du biofilm à la surface abiotique. Ce mouvement de surface est généré par la capacité de certaines bactéries, notamment à Gram négatif, de se mouvoir individuellement sur un support. Ce phénomène est dépendant de la présence de *pili* de type IV sur la surface bactérienne. Des mouvements de 1 mm/heure ont été enregistrés en laboratoire avec des biofilms formés par *P. aeruginosa*, seuls ou associés à d'autres bactéries, dans des milieux avec des flux de liquide. Cette méthode de dispersion des biofilms est supposée être à l'origine d'infection pulmonaire, conséquence d'une intubation avec un tube endotrachéal.

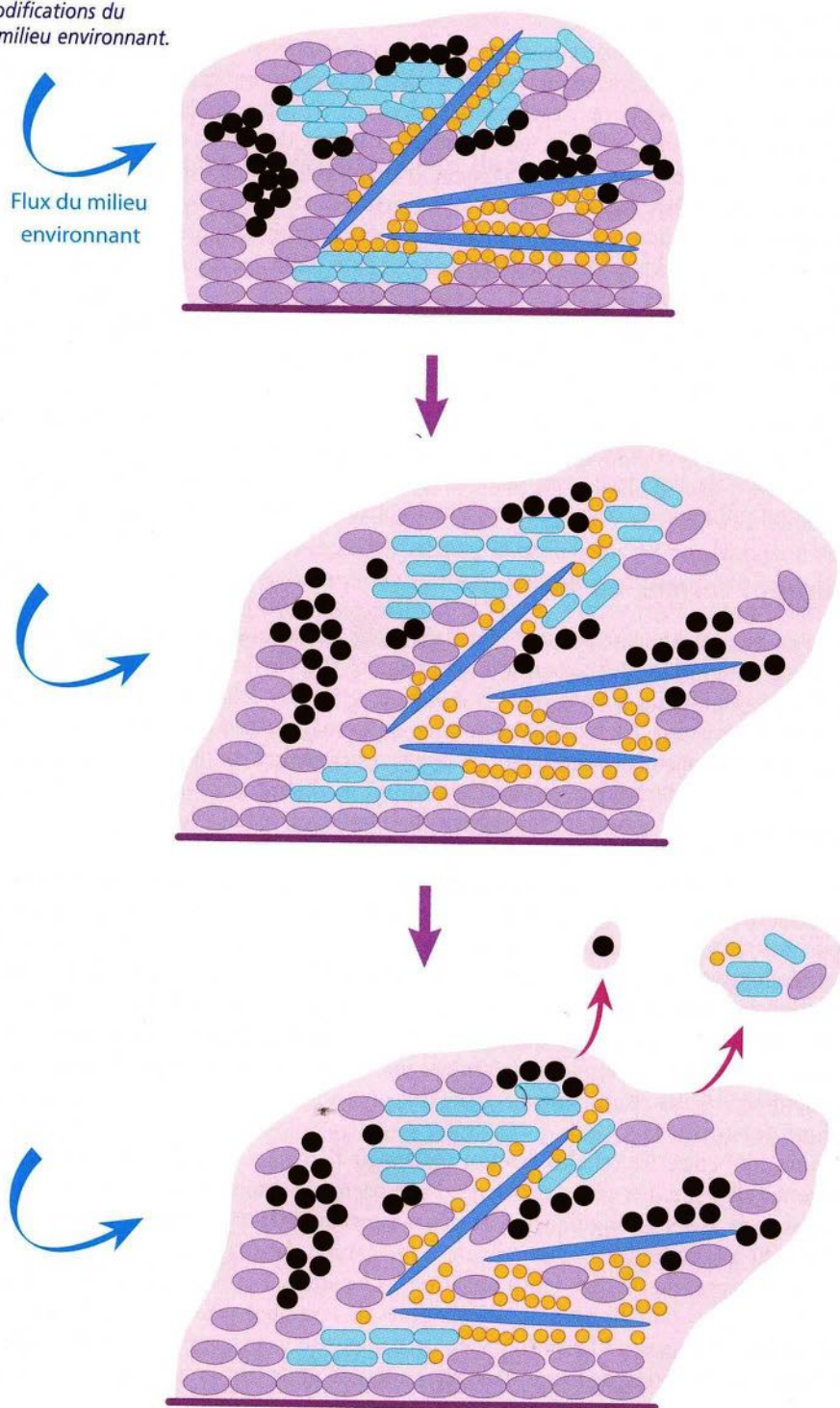
Pourquoi former un biofilm ?

La vie en biofilm présente plusieurs avantages pour les micro-organismes. D'abord, l'association cellulaire sur une surface définie apporte une stabilité pour le développement dans un environnement qui fluctue. Le biofilm favorise aussi la croissance grâce aux échanges métaboliques entre les cellules. De plus, la structure en biofilm, constituée de la matrice extracellulaire relativement hermétique, forme un environnement protecteur face aux facteurs physico-chimiques de l'environnement tels que les rayonnements ultraviolets, la variation du pH, la déshydratation, de fortes pressions osmotiques ou encore l'action d'agents antimicrobiens (antibiotiques, métaux lourds).

La coopération métabolique au sein d'une communauté polymicrobienne a été montrée. Ces travaux suivent le développement d'espèces microbiennes orales qui possèdent des activités glycosidases et protéases réduites limitant leur croissance en présence de mucine gastrique de porc. En revanche, en supplémentant ces cultures avec d'autres espèces bactériennes dont les activités enzymatiques sont plus développées, l'ensemble de la communauté polymicrobienne se développe pleinement. Des résultats similaires ont été obtenus avec les deux bactéries de la flore buccale *Streptococcus oralis* et *Actinomyces naeslundii*. Ces bactéries ne croissent pas ou peu en monoculture avec comme milieu de culture de la salive tandis qu'elles présentent une forte croissance après co-adhésion ou co-agrégation. Ces derniers travaux montrent la nécessité du contact entre les cellules pour que la coopération métabolique s'exerce.

La proximité entre les cellules favorise également l'échange de matériel génétique appelé transfert horizontal de gène. Les gènes transférés d'une bactérie à l'autre peuvent être par exemple des gènes de résistance à des antibiotiques. Ces gènes peuvent se trouver dans la matrice extracellulaire du biofilm dû à la forte densité bactérienne. L'intégration dans une bactérie se fait si cette dernière est dite compétente, c'est-à-dire dans un état physiologique où sa paroi est relativement perméable. Des plasmides entiers portant un ou plusieurs gènes de résistance peuvent également être échangés entre cellules par conjugaison. Le phénomène de conjugaison est favorisé dans un biofilm du fait de la proximité des bactéries, de leur grande concentration et de leur immobilisme. Le transfert horizontal

Figure 2.2 : modifications du biofilm par le milieu environnant.



de gène peut expliquer en partie la moindre susceptibilité aux antibiotiques des bactéries formant un biofilm comparé au développement planctonique. Par exemple, une souche de *Klebsiella pneumoniae* qui ne produit pas de β -lactamase est éradiquée par un traitement de 500 $\mu\text{g/mL}$ d'ampicilline en milieu liquide, tandis que dans un biofilm le même traitement ne tuera que 34 % des bactéries. Cependant, les mécanismes de résistance aux antibiotiques au sein d'un biofilm sont particuliers. Les mécanismes classiques, tels que les pompes d'efflux ou la modification de la cible de l'antibiotique, avec un fondement génétique, semblent jouer peu de rôle dans le biofilm.

Une hypothèse pouvant expliquer la diminution de la susceptibilité des bactéries est la faible ou non pénétration de l'antibiotique dans le biofilm. La matrice extracellulaire formant le biofilm limite la diffusion et retarde donc sa pénétration. C'est le cas des antibiotiques aminoglycosylés, chargés positivement, qui sont captés par la matrice extracellulaire, chargée négativement. Un gradient d'antibiotique peut donc s'installer entre les régions internes et externes du biofilm. De plus, l'antibiotique peut être inactivé par les bactéries constituant le biofilm. Des cellules exprimant une β -lactamase présentes à la surface du biofilm peuvent dégrader un antibiotique tel que l'ampicilline et ainsi protéger les cellules sans β -lactamase présentes à l'intérieur du biofilm.

Les micro-environnements qui se créent au sein du biofilm peuvent également expliquer l'altération de l'activité des antibiotiques. Par exemple, l'utilisation de micro-électrodes a montré l'existence d'un gradient d'oxygène, atmosphère aérobie en surface du biofilm et anaérobie au centre. L'activité antimicrobienne de certains antibiotiques est liée à la présence d'oxygène. Par exemple, les antibiotiques aminoglycosylés ont une activité réduite en absence d'oxygène.

Les micro-environnements des biofilms influencent également l'état physiologique des cellules. Dans un biofilm, la croissance est ralentie, les bactéries se trouvent dans un état de « dormance ». Or, l'activité des antibiotiques est optimale lorsque les bactéries sont en phase de croissance. C'est le cas par exemple des β -lactamines qui s'intègrent et déstabilisent les parois bactériennes et qui donc ne sont actives que lorsque les cellules sont en division.

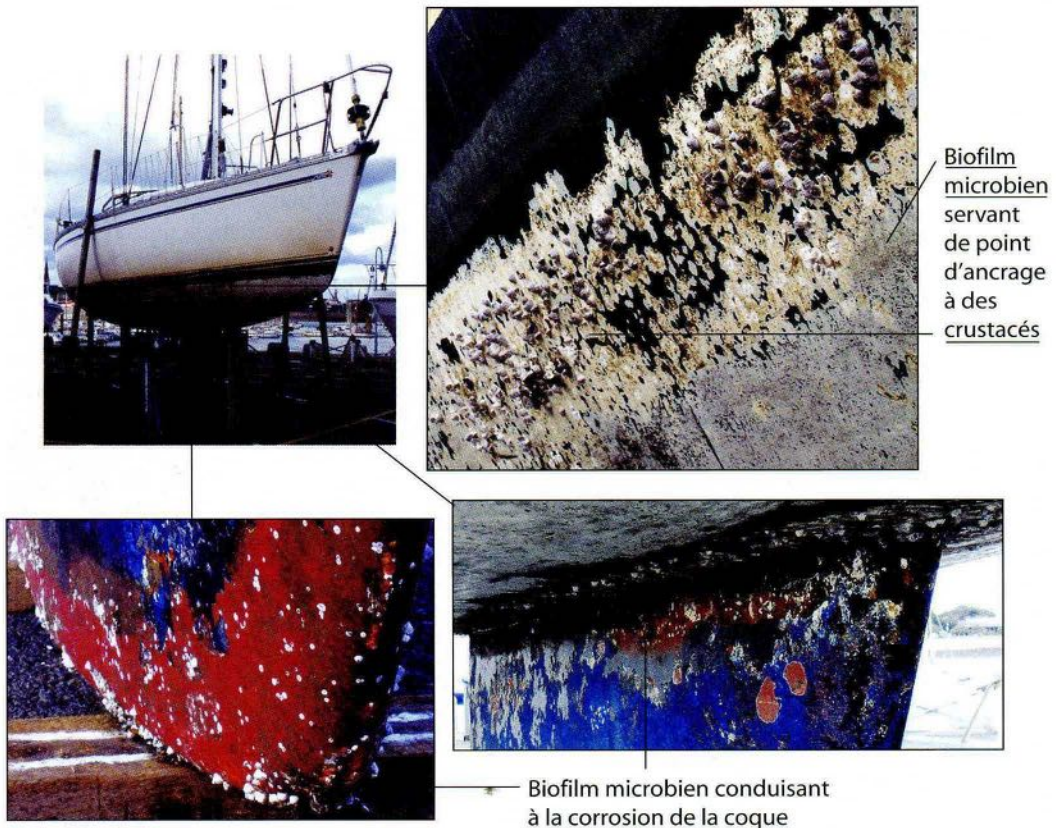
Quelques exemples de biofilms

Bien que la première description d'un biofilm date du XVIII^e siècle, la capacité des micro-organismes à former des biofilms remonte à des milliards d'années comme en témoigne la découverte de biofilms filamenteux dans les roches hydrothermales de la région de Pilbara (Australie) datant de 3,2 milliards d'années. Déjà à cette époque, les micro-organismes devaient former des biofilms pour répondre aux conditions environnementales défavorables liées à la formation de la Terre : températures et pH extrêmes, exposition aux rayonnements ultraviolets... Depuis, les micro-organismes n'ont jamais cessé d'adopter cette forme de vie pour coloniser tous les environnements qu'ils soient naturels ou façonnés par l'homme.

Le biofilm étant par définition un agrégat cellulaire dans un environnement liquide, beaucoup de biofilm se développe dans l'eau que ce soit l'eau de mer ou l'eau douce. Dans le milieu marin, les biofilms sont présents à la surface de rochers, de coquillages et également sur la coque des bateaux. Dans ce dernier cas, le développement des biofilms conduit à la dégradation des matériaux que ce soit du bois ou du métal. Il entraîne également l'augmentation des forces de résistance puisqu'un biofilm d'une épaisseur de 0,1 mm augmente les forces de friction de 5 à 15 %. L'accroissement des forces de friction induit une augmentation de la consommation de fuel. Ce surcoût est estimé à 500 millions de dollars pour la marine militaire américaine. Pour tenter de remédier à ce problème, les coques de navires ont été recouvertes de plaque de cuivre qui est toxique pour les micro-organismes.

nismes et empêche donc leur adhérence. Malheureusement, la toxicité du cuivre n'est que transitoire. Certains micro-organismes parviennent à réduire leur susceptibilité au métal et à adhérer aux coques des navires servant ainsi de point d'ancrage à d'autres cellules pour que le biofilm se développe. Un autre problème lié au cuivre est sa toxicité pour d'autres organismes marins. Ces inconvénients ont conduit à remplacer le cuivre par une peinture à base d'étain. Cette dernière, efficace pour limiter le développement des biofilms, n'est pas biodégradable. Aussi, de nombreux pays interdisent son utilisation, laissant le problème de la formation de biofilm à la surface des coques de navire irrésolu actuellement (Figure 2.3).

Figure 2.3 : exemple de biofilm présent à la surface d'une coque de bateau.



Les biofilms sont souvent retrouvés dans une majorité des circuits d'eau. Ils se déposent sur la surface des tuyaux, des canalisations. L'usage de solutions détergentes associées au flux liquidien réduit leur augmentation de volume (Figure 2.4).

Les biofilms peuvent également présenter un pouvoir pathogène, soit pour la faune marine, soit pour l'homme. Ainsi, le développement des biofilms à la surface des coraux, lié au réchauffement de la planète, est en partie responsable de la destruction des massifs coralliens. Les biofilms présents à la surface produisent du sulfite à l'interface biofilm-coral. Le sulfite est toxique pour les tissus coral-

liens et conduit à leur destruction qui se traduit par un noircissement des coraux. Les biofilms seraient liés aux épidémies chroniques de choléra au Bangladesh. Ces travaux mettent en évidence que les épisodes de choléra apparaissent lorsque la température de l'eau de mer est la plus élevée dans le golfe du Bengale. Durant cette période, la concentration en plancton augmente. Le plancton sert de réservoir à *Vibrio cholerae*, l'agent infectieux responsable du choléra. La bactérie est présente à la surface du phyto- et du zooplancton sous la forme de biofilm. Avec les courants marins associés aux marées, l'eau de mer remonte les eaux fluviales ce qui permet au plancton chargé de *V. cholerae* d'être transporté à l'intérieur des terres. L'eau étant utilisée, pour l'hygiène quotidienne, sans traitement préalable par les bangladais, la bactérie peut entrer en contact avec l'homme et l'infecter.

Figure 2.4 : observation par MEB d'un biofilm formé à l'intérieur d'un conduit d'eau (Microbiologie - Université Rennes 1).



Le premier biofilm découvert fut la plaque dentaire ce qui justifie pleinement le nom de biofilm dentaire (Tableau 2.1). Il est encore aujourd'hui très étudié car il est directement lié à la santé bucco-dentaire. En effet, c'est dans la plaque dentaire que se trouvent les micro-organismes responsables de la formation des caries avec principalement les streptocoques et, des parodontites avec deux bactéries retrouvées le plus souvent dans les foyers d'infection *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (parodontite agressive) et *Porphyromonas gingivalis* (parodontite de l'adulte). Ces bactéries, ainsi que d'autres, peuvent être retrouvées de nouveau sous forme de biofilm dans la circulation sanguine après avoir dégradé la barrière endothéliale. Une fois dans le système cardiovasculaire, ces bactéries peuvent interagir avec des cellules endothéliales et former un foyer infectieux. Ces interactions sont favorisées par la présence d'aspérités comme des cellules endommagées, des thromboses. Des foyers infectieux naturels sous forme de biofilm peuvent également se créer dans le tractus urogénital formant 15 à

20 % des calculs rénaux. Ces calculs résultent de l'interaction des micro-organismes avec des résidus bactériens et des composés minéraux présents dans les urines. Le rôle des biofilms dans les infections microbiennes n'a que récemment été montré, et étant difficile à mettre en évidence il semble sous-estimé. Les foyers infectieux dus aux biofilms peuvent également se former après une intervention médicale ou chirurgicale tel que le remplacement de valves cardiaques. Les interventions chirurgicales ne sont pas les seules causes de formation de biofilm. Il a récemment été montré que des biofilms peuvent se former suite à l'installation d'un cathéter ou bien de sonde urinaire. Avec les matériels médicaux introduits dans l'organisme, les micro-organismes ont une surface sur laquelle adhérer et former les micro-colonies.

Tableau 2.1 : comparaison des propriétés des biofilms en général et du biofilm dentaire (d'après Marsh, 2004).

Le biofilm en général	Le biofilm dentaire
Architecture ouverte	Présence de canaux
Protection contre les défenses de l'hôte	Production des polymères extracellulaires : glycocalyx
Augmentation des résistances aux antibiotiques	Résistance accrue à la chlorhexidine et antibiotiques
Neutralisation des inhibiteurs	Production de β -lactamases
Expression de nouveaux gènes	Synthèse de nouvelles protéines, surexpression de <i>gtfBC</i>
Réponses coordonnées des gènes	Production de molécules de signalisation (CSP et AI2)
Hétérogénéité spatiale et environnementale	Gradients de pH et O_2 ; coadhérence
Habitat varié	Anaérobies stricts dans environnement ouvert à l'air
Métabolisme efficace	Catabolisme des macromolécules de l'hôte (mucines) par un consortium de bactéries

Références bibliographiques

Voir « Les biofilms buccaux ».

Les biofilms buccaux

(P. Gracieux, J.-C. Robert, M. Bonnaure-Mallet)

L'homme est constitué de 10^{13} cellules et abrite 10^{14} micro-organismes. La flore résidente contribue directement ou indirectement au développement normal de la physiologie, de la nutrition et du système de défense de l'hôte. Par exemple, la modification de la microflore par antibiothérapie peut entraîner la croissance de bactéries résistantes, la colonisation d'espèces exogènes (souvent pathogènes) et des déficiences dans l'absorption ou le métabolisme des vitamines.

La composition de la flore commensale est caractéristique pour chaque habitat comme la bouche, la peau, les muqueuses, etc., avec des transferts fréquents entre les sites, implantation ou simples passages. Dans un système en équilibre, la composition de la microflore résidente de chaque site reste stable dans le temps. Cette stabilité, dénommée homéostasie microbienne, nécessite une neutralité biologique entre l'hôte et la microflore. Elle découle d'un équilibre dynamique relationnel entre espèces bactériennes et interactions hôte-bactéries. Tout changement dans la dynamique de la niche écologique, donc de l'environnement, perturbe cet équilibre.

Chez l'homme, la flore buccale est très complexe et diversifiée. Elle est constituée de parasites eucaryotes, de champignons et levures, de mycoplasmes et de plus de 500 espèces bactériennes. Les bactéries sont nombreuses et six milliards de nouvelles bactéries seraient produites en 1 ou 2 heures dans la bouche de chaque individu (Tableau 2.2). La coexistence d'un si grand nombre de micro-organismes dans un même habitat dépend des relations entre eux (antagonisme ou synergisme) et le milieu buccal. Cette coexistence prend la forme de plaque bactérienne appelée aussi biofilm dentaire.

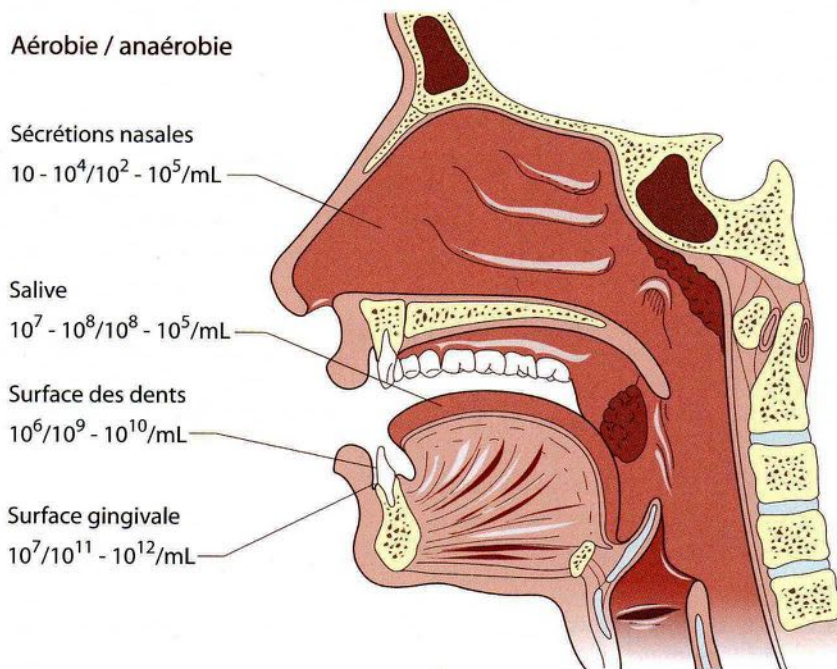
Tableau 2.2 : la flore buccale en quelques chiffres.

Un individu	10 ¹³ cellules eucaryotes	
	10 ¹⁴ bactéries	
Dans la cavité buccale	10 ¹⁰ bactéries - plus de 500 espèces différentes	
	En 2 heures, 6 milliards de bactéries sont renouvelées	
	En 4 heures, il y a entre 2,5 x 10 ⁵ et 6,3 x 10 ⁵ bactéries par mm ² sur la dent	
	1 mg de biofilm dentaire = 10 ⁹ bactéries	
Sur les cellules épithéliales	Face interne des joues	pour une cellule : 0 à 25 bactéries
	Face dorsale de la langue	pour une cellule : 100 bactéries

L'écologie est la science qui étudie les interactions entre les organismes et leur environnement vivant (biotique) et non vivant (abiotique). Un écosystème est composé d'une communauté microbienne vivant dans un habitat défini et d'éléments abiotiques physiques, et biochimiques. Dans sa plus simple expression, l'écosystème buccal est composé de micro-organismes buccaux et de leur environnement : la cavité buccale. Au sein d'un écosystème, le développement de la communauté entraîne une succession de populations. Le processus commence avec la colonisation de l'habitat par des populations microbiennes pionnières. Ces micro-organismes occupent la niche de ce nouvel environnement et modifient l'habitat. Il en résulte l'installation de nouvelles populations. Comme le processus est continu, la diversité et la complexité de la communauté microbienne s'accroissent. Les successions se terminent quand aucune niche additionnelle n'est disponible pour de nouvelles populations. À ce stade, un assemblage relativement stable de bactéries est construit, nous retrouvons la « communauté ».

Chaque habitat a ses critères (Figure 2.5) qui permettent à certaines populations de dominer sur un site et de subir sur un autre. Ces facteurs incluent les récepteurs appropriés d'attachement, la présence de nutriments essentiels et de cofacteurs de croissance, aussi bien qu'un pH, un potentiel d'oxydo-réduction et un environnement gazeux adapté. La comparaison de la composition des flores de la cavité buccale et du tractus gastro-intestinal montre que sur 500 espèces retrouvées dans la bouche, seules 29 sont retrouvées dans les échantillons fécaux. Dans la bouche, les différences entre les surfaces sont nombreuses permettant une colonisation bactérienne spécifique de chacune. Les conditions écologiques diffèrent fortement entre les surfaces muqueuses (lèvres, joues, palais, langue) et les dents. Les caractéristiques de l'habitat conditionnent la composition quantitative et qualitative de la flore résidente de chaque écosystème. Pour identifier les déterminants écologiques qui conditionnent la colonisation bactérienne de la cavité buccale, il est nécessaire d'en connaître les particularités environnementales.

Figure 2.5 : répartition et quantités de bactéries dans les différents habitats faciaux.



L'habitat microbien buccal

Conditions physico-chimiques environnementales

Les facteurs physico-chimiques sont la conséquence d'actions combinées de l'hôte, des bactéries et des facteurs externes. La croissance des micro-organismes dépend de variables importantes : l'environnement humide (hydrométrie), la température relativement constante, le pH proche de la neutralité dans la plupart des sites, le potentiel redox, la disponibilité des nutriments, l'anatomie des structures et le flux salivaire.

Chaque paramètre pour un habitat donné influence la sélection des micro-organismes et aide à maintenir l'équilibre dans la population bactérienne. Tous ces paramètres sont liés et sont dépendants de l'hôte ainsi que de l'alimentation et de l'hygiène buccale.

Hydrométrie

La cavité buccale étant en permanence baignée par la salive et le fluide gingival, l'eau n'est pas considérée comme un facteur limitant. La salive a une grande influence sur l'écologie buccale. Les ions et les composants organiques (glycoprotéines et protéines) influencent la sélection et l'établissement de la flore buccale par colonisation des surfaces en favorisant l'adhérence de certains micro-organismes sur un film à sites sélectifs, ou par agrégation sur d'autres espèces.

Température

La température de la cavité buccale est relativement constante (34 à 36°C). Cette température autorise la croissance d'un grand nombre d'espèces bactériennes. La température au niveau des dents et des muqueuses doit varier davantage lors des prises alimentaires : les micro-organismes colonisateurs de ces sites sont exposés à des chaud/froid et doivent s'adapter à ces variations extrêmes. À notre connaissance, il n'y a pas de données dans la littérature sur l'effet de ces courtes périodes chaud/froid sur le métabolisme bactérien.

pH

Généralement, les micro-organismes n'acceptent pas des variations importantes de pH. La majorité des bactéries buccales ont un pH optimal de croissance entre 6 et 7,8. Les variations de pH affectent les micro-organismes et particulièrement les enzymes bactériennes. Ces dernières entraînent la « dissolution » de plusieurs molécules qui influencent indirectement les micro-organismes. Le pH de la cavité buccale est maintenu près de la neutralité (6,7 à 7,3) par l'activité tampon de la salive qui neutralise l'acidité des aliments consommés, mais aussi l'acidité produite par les bactéries. Cependant, du fait de la faible diffusion de la salive dans le biofilm (ou plaque dentaire), les acides produits par les bactéries acidogènes à partir de la fermentation des hydrates de carbone s'accumulent au sein du biofilm. Dans ces conditions, seules les bactéries susceptibles de tolérer des pH acides survivent (bactéries aciduriques).

Le pH dans le sillon gingivo-dentaire varie entre 7,5 et 8,5.

Potentiel d'oxydo-réduction et anaérobiose

De nombreuses réactions enzymatiques sont des réactions d'oxydo-réduction dans lesquelles un produit est oxydé et l'autre réduit. Le niveau d'oxydation ou de réduction se mesure par le potentiel d'oxydo-réduction ou potentiel redox (Eh) exprimé en mV. L'Eh est largement influencé par la présence ou l'absence d'oxygène.

Les bactéries anaérobies ont besoin d'un environnement réduit (Eh négatif) pour leur croissance, tandis que les bactéries aérobies ont besoin d'un environnement à Eh positif. En général, le dos de la langue, les muqueuses palatine et jugale sont des environnements à Eh positif, qui supportent mieux la croissance de bactéries anaérobies facultatives. Le sillon gingivo-dentaire et les surfaces proximales des dents ont un Eh plus bas et une concentration plus élevée de bactéries anaérobies. Les valeurs de l'Eh varient entre +158 à +542 mV dans la salive, mais sont de -300 mV dans le sillon gingivo-dentaire. L'Eh varie aussi pendant la formation du biofilm, allant d'une valeur positive (+ 294 mV) après nettoyage de la dent à une valeur négative (-141 mV) après la formation du biofilm (7 jours). La chute de l'Eh pendant la formation du biofilm est le résultat de la consommation d'oxygène par les bactéries anaérobies facultatives et de la réduction de la capacité de l'oxygène à diffuser.

à travers le biofilm. Ceci expliquerait en partie le développement d'une flore anaérobie au cours de la formation du biofilm.

Nutriments

La disponibilité des nutriments est un des paramètres importants dans le développement et la composition du biofilm dentaire. Chaque espèce bactérienne a ses exigences nutritionnelles. Dans la cavité buccale, les micro-organismes qui s'installent dans l'environnement supra-gingival ont accès aux nutriments provenant de l'alimentation et de la salive. La salive est une importante source de nutriments et est suffisante pour la croissance bactérienne en l'absence d'apports alimentaires exogènes. La salive contient de l'eau, des hydrates de carbone, des glycoprotéines, des protéines, des acides aminés, différents ions. Parmi les composants alimentaires exogènes, ce sont les hydrates de carbone et les protéines qui ont la plus grande influence sur la composition du biofilm dentaire. Le sillon gingivo-dentaire est moins exposé aux composants salivaires et aux aliments et, la principale source de nutriments pour les bactéries est le fluide gingival. Ce fluide contient en particulier l'hémine et la vitamine K nécessaires à la croissance de bactéries telles que *P. gingivalis*. Plusieurs sources de nutriments sont aussi produites par les bactéries. Quelques micro-organismes coopèrent pour dégrader des nutriments et les produits de dégradation sont utilisés par d'autres micro-organismes.

Les structures de la cavité buccale

La diversité des micro-organismes est liée aux différentes structures de la cavité buccale. Sur la base de critères morphologiques et physiques, la cavité buccale présente de nombreux écosystèmes (également appelés niches écologiques), chacun ayant des déterminants écologiques distincts. On peut évoquer l'épithélium buccal, les surfaces dentaires supra-gingivales et l'espace sous-gingival constitué par la dent, un épithélium et un fluide.

Sans doute la dent peut-elle être considérée comme un habitat, mais il est plus juste de considérer plusieurs surfaces, chacune favorisant une écologie qui lui est propre. Les puits et fissures des faces occlusales protègent la microflore de l'environnement, mais ils restent sensibles aux influences nutritionnelles. La microflore y est dominée par des bactéries à Gram positif, aérobies ou anaérobies aérotolérantes, en particulier les streptocoques. Les sites interproximaux et les sillons gingivo-dentaires offrent une protection contre les manœuvres de nettoyage des dents (mastication, chasse salivaire, mesures prophylactiques). Ces deux sites ont un faible potentiel d'oxydo-réduction. Le sillon gingivo-dentaire est baigné par le fluide gingival qui contient de nombreuses protéines et glycoprotéines dont certaines sont des sources de nutriments pour les bactéries résidentes du sillon gingivo-dentaire. Ce site héberge diverses communautés incluant de fortes proportions de bactéries anaérobies strictes. Beaucoup de ces bactéries sont protéolytiques et réagissent de manière concertée et séquentielle pour dégrader les molécules complexes en méthane, H_2S , H_2 et CO_2 . Des cofacteurs essentiels comme l'hémine proviennent de la dégradation de l'hémopexine, de l'hémoglobine et de l'haptoglobine.

L'épithélium buccal

L'épithélium peut être kératinisé (palais) ou non-kératinisé (sillon gingivo-dentaire). L'épithélium est caractérisé par une desquamation continue des cellules épithéliales superficielles qui assure une élimination rapide des bactéries fixées. L'épithélium qui recouvre la face interne des joues, de la langue, du plancher de la bouche et du palais est aussi différent selon les sites. Les surfaces épithéliales buccales (à l'exception du dos de la langue) sont colonisées par un faible nombre de bactéries

(0 à 25 UFC/cellule épithéliale). Les streptocoques sont les plus nombreux dans ces sites avec une prédominance de *S. oralis* et *S. sanguinis*. Les genres *Neisseria*, *Haemophilus* et *Veillonella* ont aussi été isolés.

La langue

Le dos de la langue semble abriter l'une des niches bactériennes les plus complexes de l'écologie humaine. On connaît mal le rôle de la flore de la langue dans la santé et la maladie, bien que des données récentes définissent les rapports entre le biofilm de la langue et l'halitose.

La morphologie du dos de la langue se caractérise par des irrégularités comme des fissures, des zones dépapillées, des papilles qui favorisent la diversité de la population bactérienne. Les papilles offrent des surfaces importantes qui favorisent l'accumulation de débris et de micro-organismes. Les niches créent un environnement dans lequel les micro-organismes sont préservés des phénomènes de chasse salivaire et où le niveau d'oxygène est bas, avec développement des bactéries anaérobies. L'enduit lingual se présente comme une couche blanchâtre composée de cellules épithéliales, de cellules sanguines, de métabolites, de nutriments et de bactéries. Plus de 100 bactéries s'attachent à une seule cellule épithéliale du dos de la langue alors que 25 bactéries s'attachent aux cellules épithéliales des autres sites buccaux. La composition de l'enduit lingual varie en fonction de différents facteurs comme l'âge, l'hygiène, le flux salivaire et l'état parodontal. Dans l'enduit lingual, les bactéries qui produisent des composés sulfurés volatils seraient responsables de l'halitose.

On retrouve en priorité dans la flore cultivable prédominante, les streptocoques (*S. salivarius* et *S. mitis*) et des espèces de *Veillonella*, ainsi que plusieurs espèces anaérobies (*Bacteroides*, *Fusobacterium* spp., *Peptococcus* et *Peptostreptococcus*). Les espèces bactériennes venant des autres niches buccales peuvent aussi être isolées; en particulier des bactéries sous-gingivales, dont différents pathogènes parodontaux. La langue est donc un réservoir pour une recolonisation possible après un traitement parodontal. Ainsi, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens* et les spirochètes, sont fréquemment retrouvés.

Le fluide buccal

Il est constitué par la salive, le fluide gingival, des micro-organismes et des débris issus de différents sites de la cavité buccale par détachement de leur lieu d'origine (Figure 2.6).

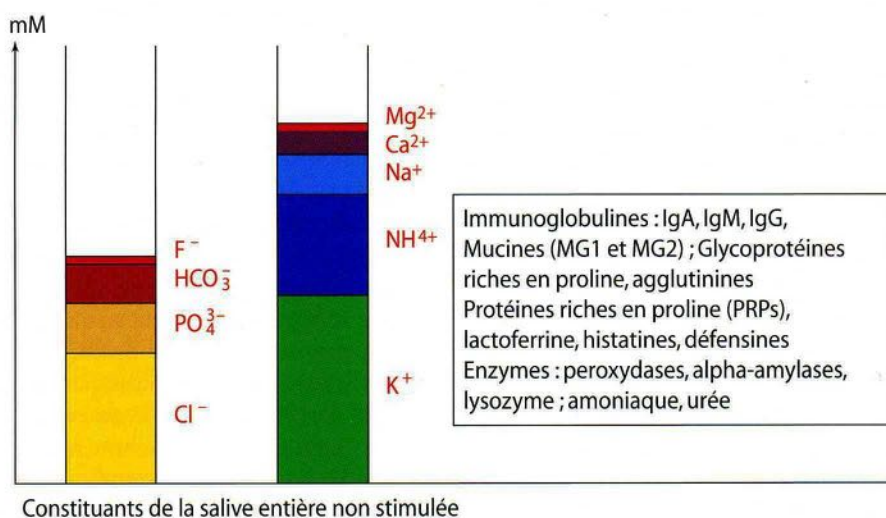
La salive est un mélange complexe qui provient des trois paires de glandes salivaires majeures : les parotides, les sous-maxillaires, les glandes sublinguales et des glandes salivaires mineures. La salive contient 99 % d'eau, des glycoprotéines, des protéines, des hormones, des vitamines, de l'urée et plusieurs ions. La concentration des éléments salivaires varie en fonction du flux salivaire.

Le fluide gingival est un exsudat d'origine plasmatique qui transite depuis le tissu conjonctif gingival à travers l'épithélium de jonction dans le sillon gingivo-dentaire. La diffusion du fluide gingival est très faible pour une gencive saine et importante pour une gencive malade. Sa composition est identique à celle du plasma. Il contient de nombreuses protéines dont de l'albumine, des immunoglobulines, le complément, et des leucocytes.

Pellicule acquise exogène

Une succession d'événements, sous le contrôle de plusieurs paramètres, permettent le développement du biofilm dentaire. Après un brossage prophylactique des dents, le biofilm dentaire se dépose sur un film organique d'origine salivaire, libre de tout élément cellulaire : la pellicule acquise exogène (PAE). La PAE est un film protéique fin, d'une épaisseur inférieure à 1 µm. Ce film se forme spontanément sur la surface dentaire minéralisée par l'adsorption sélective de protéines salivaires. Il est le préliminaire indispensable à la fixation des bactéries pionnières.

Figure 2.6 : composition du fluide buccal.



Grâce à de nouvelles approches protéomiques, les principaux constituants connus de la PAE se révèlent être des glycoprotéines et des phosphoprotéines avec les IgA, les IgG, le lysozyme, l'albumine, l' α -amylase, la glycosyl-transférase, les mucines de poids moléculaire élevé MG1 et les cystatines SA-I, la lactoferrine, l'anhydrase carbonique, les phosphoprotéines riches en proline (PRPs), la stathérine et l'acide sialique. Les sucres sont également retrouvés dans la PAE (galactose, mannose et glucose). Des phospholipides sont présents notamment dans la PAE du sillon gingivo-dentaire constitué d'une part par des éléments salivaires et d'autre part par les constituants du fluide gingival. Deux nouveaux constituants viennent compléter récemment cette liste : la calgranuline B et des cytokératines, distinctes des cytokératines retrouvées dans la peau et les cheveux. La PAE possède les structures susceptibles de retenir les bactéries buccales et autorise la première étape de l'adhérence bactérienne. La PAE peut être bénéfique à la santé dentaire ou participer à son déséquilibre. Protectrice, elle s'oppose à la décalcification de la dent, notamment lors d'ingestion d'aliments ou de boissons acides.

Formation du biofilm dentaire

L'adhérence et la colonisation des bactéries sur les surfaces dentaires sont à l'origine d'un écosystème complexe : le biofilm dentaire. Sans rétention ou adhérence sur la surface dentaire, les bactéries sont dégluties avec la salive. L'adhérence des bactéries sur une surface dentaire permet la formation d'une communauté organisée, intime, multi-espèces en biofilm.

Les surfaces dentaires et parodontales sont constamment baignées dans deux liquides physiologiques différents : la salive et le fluide gingival. L'environnement supra-gingival est baigné par la salive, tandis que l'environnement sous-gingival est baigné par le fluide du sillon gingival et la salive.

Les micro-organismes les plus fréquemment isolés sont répertoriés dans le tableau 2.3. Leur distribution varie de façon quantitative et qualitative selon leur habitat.

Au niveau de la dent, les micro-organismes s'organisent en biofilm. Le biofilm dentaire consiste en une communauté microbienne organisée dans une matrice extracellulaire complexe composée de produits extracellulaires microbiens et de composants salivaires. La composition microbienne du biofilm

dentaire varie dans le temps et selon les sites. Le biofilm dentaire se développe préférentiellement sur les surfaces protégées des frictions mécaniques comme les faces proximales de dents contiguës ou l'espace sous-gingival.

Pour s'établir dans la cavité buccale, les micro-organismes doivent d'abord adhérer à la surface dentaire ou aux surfaces épithéliales. L'adhérence est un déterminant écologique primordial pour que les bactéries buccales persistent et survivent. La bouche est le site unique où la présence des tissus durs permet le développement d'une flore particulière organisée en biofilm, alors que la desquamation des tissus épithéliaux favorise l'élimination bactérienne de la plupart des muqueuses.

La fixation de bactéries pionnières est l'étape initiale de la formation du biofilm dentaire. Seul un nombre restreint d'espèces bactériennes peut se fixer directement sur la PAE. Ces bactéries possèdent à leur surface des adhésines qui reconnaissent spécifiquement des récepteurs de la PAE. Elles n'assurent pas la diversité du biofilm dentaire, mais leur présence est indispensable à la fixation ultérieure d'autres espèces bactériennes.

Le biofilm dentaire est un biofilm dynamique, partiellement détruit lors du brossage des dents qui se reconstruit rapidement sur la PAE. Comme tout biofilm, la formation se déroule en plusieurs étapes successives qui sont illustrées sur la figure 2.7.

Tableau 2.3 : principaux genres bactériens présents dans la plaque dentaire.

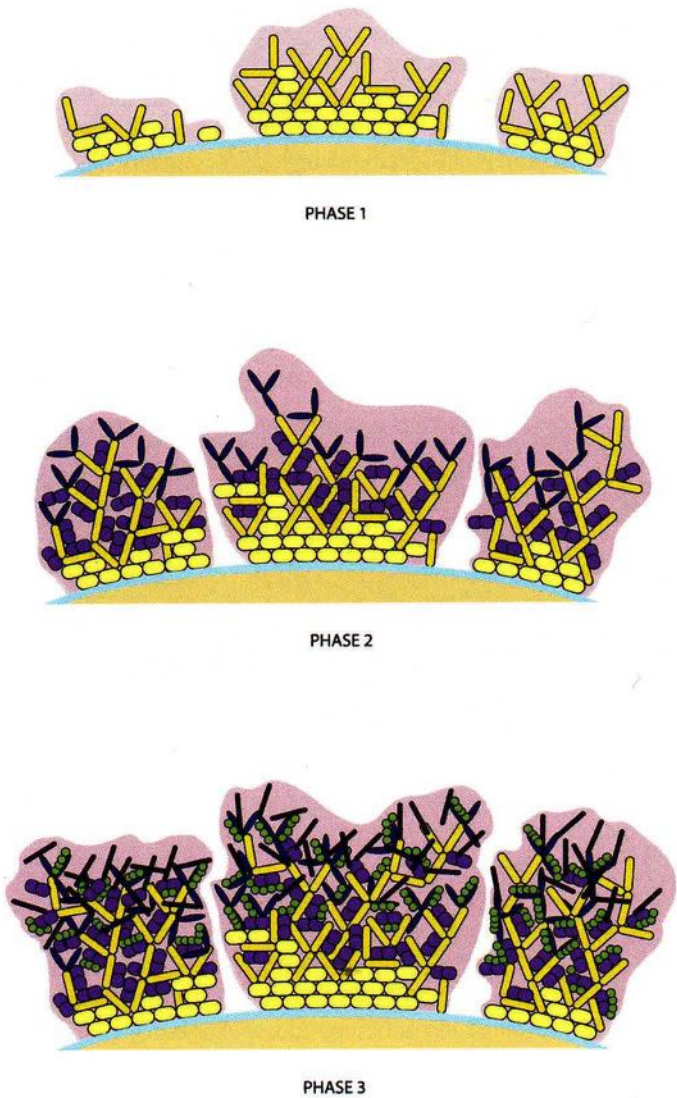
Genres à Gram positif	Genres à Gram négatif
Cocci	
<i>Peptococcus</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Veillonella</i>
<i>Streptococcus</i>	
Bacilles	
<i>Actinomyces</i>	<i>Actinobacillus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Campylobacter</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Capnocytophaga</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>Haemophilus</i>
<i>Rothia</i>	<i>Klebsiella</i>
	<i>Leptotrichia</i>
	<i>Prevotella</i>
	<i>Porphyromonas</i>
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Selenomonas</i>
	<i>Treponema</i>

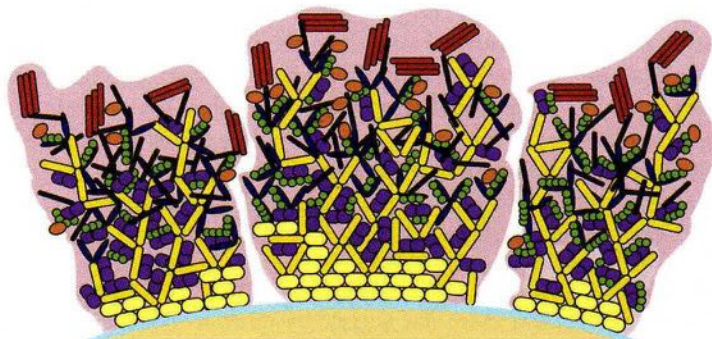
Phase réversible

Les streptocoques du groupe *mitis* sont les organismes pionniers. Ils adhèrent plus facilement que ceux du groupe *mutans* à la PAE.

Dans la phase initiale de colonisation, l'adhérence résulte d'interactions physico-chimiques non spécifiques entre la bactérie et les surfaces. Ces interactions dites réversibles n'expliquent pas l'attachement sélectif des bactéries à des surfaces variées. Une bactérie libre peut se rapprocher d'une surface inerte, par exemple une surface dentaire, par le biais de quatre mécanismes :

Figure 2.7 : chronologie de la formation du biofilm dentaire. Les bactéries sont représentées selon les groupes de Haffajer et Socransky.

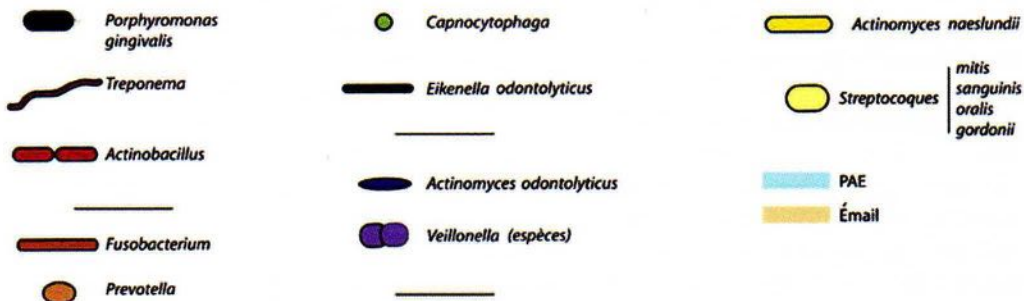




PHASE 4



PHASE 5



- la convection, qui regroupe l'ensemble des forces résultant des mouvements de la langue et des courants salivaires ;
- les mouvements actifs de bactéries motiles. La motilité (mobilité bactérienne) est souvent associée au chimiotactisme qui permet aux bactéries de se rapprocher des surfaces où les concentrations en molécules (composés nutritifs, protons, molécules signal) sont plus importantes ;
- la diffusion passive. Il s'agit du mouvement Brownien qui anime toutes les bactéries et leur permet un déplacement aléatoire à la vitesse moyenne de 40 $\mu\text{m/h}$;
- la gravitation.

Phase irréversible

L'adhérence irréversible fait intervenir des interactions non sélectives et des interactions sélectives. Les interactions non sélectives s'établissent entre une surface bactérienne globalement chargée négativement et la PAE. En effet, l'acide lipotéichoïque des bactéries à Gram positif ou le LPS des bactéries à Gram négatif confèrent à la surface bactérienne une charge négative. Les bactéries se lient à la PAE chargée négativement par l'intermédiaire de cations divalents (notamment les ions Ca^{2+}).

La colonisation sélective implique des interactions spécifiques ou stéréochimiques entre les adhésines bactériennes et les récepteurs de l'hôte. Dans ce cas, les forces physico-chimiques interviennent également, mais de façon très localisée et organisée dans l'espace.

Ces interactions spécifiques sont de type ligand-récepteur, les molécules adhésives ou adhésines bactériennes jouent le rôle de ligand. La catégorie la plus connue d'adhésines bactériennes est représentée par les lectines. Une lectine est une protéine capable de se fixer à un sucre spécifique. Les adhésines auraient un rôle de molécules sensorielles. Les streptocoques du groupe *mitis* se lient avec de nombreuses molécules de l'hôte. Ainsi, leurs adhésines de la famille des antigènes I/II ou P1 (SpaP, SpaA, Pac...), celles de la famille Lral (FimA, SsaB, PsaI...) et leurs protéines fixant l'amylase (Abp pour *Amylase binding protein*) se lient aux glycoprotéines salivaires de type agglutinines. Il a été montré que *S. gordonii* se lie aux protéines acides riches en proline (PRP). Les PRP acides représentent 25 à 30 % des protéines totales salivaires. Elles régulent l'équilibre cristallin de l'hydroxyapatite et contribuent à l'intégrité de la dent. La PRP1 acide est utilisée comme nutriment par les premiers colonisateurs. *S. gordonii* dégrade rapidement cette protéine en oligopeptides. L'un d'entre eux empêchera l'adhérence de *A. naeslundii*. Il existe une véritable compétition entre les deux bactéries pionnières : les streptocoques et les actinomyces avant leur installation. Les interactions nombreuses entre les streptocoques, les molécules de l'hôte et les autres bactéries pionnières montrent qu'il existe des réseaux de communication multifactoriels entre la bactérie et son environnement.

Les adhésines peuvent être portées par des *fimbriae* ou par des flagelles. Les *fimbriae* de *A. naeslundii* sont de deux types majeurs : le type 1 permet la colonisation des tissus durs, il se lie aux protéines riches en proline et à la stathérine de la PAE ; le type 2 permet la colonisation des tissus épithéliaux, il est impliqué dans l'adhérence inter-bactérienne.

En établissant un pont entre le corps bactérien et la surface à coloniser, les *fimbriae* permettent d'établir un contact, alors que la bactérie est encore à distance de son substrat de fixation. Ils permettent ainsi le passage de la phase réversible à la phase irréversible au cours du processus de fixation d'une bactérie.

Une autre forme d'interactions spécifiques est celle de type enzyme-substrat. L'exemple le mieux documenté est celui de *S. mutans* où l'enzyme glycosyl-transférase intégrée à la surface de la bactérie synthétise des polymères de type glycane en présence de saccharose. Les glycanes insolubles sont fortement adhésifs à la surface dentaire et la liaison de la glycosyl-transférase avec le polymère maintient

la bactérie sur la PAE. Les streptocoques sécrètent une matrice extracellulaire qui participe à l'adhérence irréversible. Cette matrice (appelée aussi glycocalyx) est composée de glycanes insolubles, mais aussi de glycanes et fructanes solubles et d'hétéropolymères. Elle joue un rôle actif et constitue une réserve de nutriments, d'eau et d'enzymes à l'intérieur du biofilm. Son influence sur la dynamique du biofilm n'est pas encore élucidée. On sait cependant que la production de glycanes insolubles permet la colonisation secondaire de *S. mutans*.

Les bactéries adhèrent aux surfaces buccales et s'organisent en agrégats conditionnés par des interactions spécifiques et nutritionnelles. Les streptocoques, et à moindre degré quelques actinomycètes, ont une aptitude unique à la coadhésion. La colonisation par les streptocoques et les actinomycètes pourra autoriser la colonisation par d'autres espèces bactériennes (Figure 2.7).

Interactions bactériennes

L'adhérence inter-bactérienne correspond à la liaison entre 2 bactéries libres et la co-adhérence à la liaison d'une bactérie libre sur une autre déjà fixée. Ces reconnaissances bactérie-bactérie sont le résultat d'interactions spécifiques entre une protéine de surface d'une bactérie et le récepteur complémentaire de la bactérie «partenaire».

La co-adhérence (agrégation ou co-agrégation) peut être homotypique, c'est-à-dire se produire entre bactéries d'une même espèce ou hétérotypique, c'est-à-dire entre bactéries de genres ou d'espèces différents. Les streptocoques sont les seules espèces qui présentent une interaction bactérienne homotypique et hétérotypique. La co-agrégation traduit le phénomène de succession, phénomène décrit pour 700 souches de 14 genres (Figure 2.8).

La co-agrégation favorise les échanges nutritionnels et métaboliques. Le genre *Veillonella* peut utiliser comme source de carbone les acides organiques fournis par les streptocoques. Les protéinases Rgp et Kgp de *P. gingivalis* fournissent à la fois des domaines d'adhérence et des domaines catalytiques qui libèrent des peptides nécessaires à leur croissance.

Il existe également des échanges nutritionnels inter-bactériens (synergisme et commensalisme bactérien). Différentes bactéries coopèrent par l'utilisation de substrats qu'elles sont incapables de métaboliser seules. Par exemple, *P. gingivalis* et *F. nucleatum* métabolisent la caséine de façon synergique. La dégradation de glycoprotéines entraîne une synergie pour plusieurs bactéries qui ont des activités glycosidases et protéases complémentaires. La chaîne alimentaire aussi contribue à la diversité et à la stabilité de l'écosystème. Les streptocoques et les actinomyces produisent de l'acide lactique utilisé par *Veillonella*. L'utilisation de l'acide lactique par *Veillonella* produit de la vitamine K ou ména-dione nécessaire à la croissance des bactéries à Gram négatif (*P. gingivalis*), et l'hydrogène est utilisé par *Campylobacter rectus* qui fournit un facteur de croissance proche de l'hémine, favorisant la croissance de certains bacilles à Gram négatif (*Porphyromonas*, *Prevotella*). Les bactéries libèrent une multitude de métabolites (CO₂, ammoniacque, succinate, formate, thiamine, putréscine, isobutyrate) indispensables à la croissance d'autres bactéries.

L'utilisation de l'oxygène par certaines bactéries réduit la concentration d'oxygène et l'Eh à un niveau qui permet le développement de bactéries anaérobies.

Le mécanisme de co-adhérence est important dans l'épaississement du biofilm dentaire. La co-adhérence est un exemple de commensalisme et de synergie pour les espèces microbiennes. Les bactéries coadhérées sont plus résistantes à la phagocytose par les neutrophiles.

Un exemple de composition d'adhérence inter-bactérienne hétérotypique est illustré par les structures surnommées «corn cob» (épis de maïs) où des streptocoques s'associent à un micro-organisme filamenteux. Toutefois, *in vivo*, la fréquence et donc la signification des phénomènes d'adhérence

interbactérienne restent difficiles à étudier, en raison de la complexité des taxons impliqués et inconnus.

Figure 2.8 : biofilm dentaire observé par MEB (Microbiologie - Université Rennes 1).



Maturation du biofilm

Les bactéries pionnières sont capables de résister à de fortes concentrations en oxygène et aux divers mécanismes d'élimination de la cavité buccale. Leur croissance permet l'adhérence d'autres espèces bactériennes qui étaient incapables de se fixer sur la PAE. C'est une colonisation secondaire. Au fur et à mesure que le nombre de couches augmente, de nouvelles conditions environnementales apparaissent, le taux d'oxygène diminue et les bactéries anaérobies se développent.

Les proportions relatives des streptocoques et des actinomyces changent lors des premières étapes de l'accumulation bactérienne. La proportion des streptocoques augmente pendant les 12 premières heures, alors que la proportion des actinomyces diminue entre 4 et 12 heures puis augmente jusqu'à 24 heures. Aucune espèce d'actinomyces n'augmente significativement après 4 jours sans hygiène buccale, et seules quelques espèces de streptocoques augmentent significativement au cours du temps (*S. sanguinis* et *S. anginosus*) ainsi que des espèces des genres *Capnocytophaga*, *Campylobacter* et *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Après plusieurs heures, de nouvelles bactéries adhèrent à la PAE et de nouvelles espèces se fixent sur les bactéries installées et augmentent ainsi la diversité du biofilm dentaire jeune. Ces espèces bactériennes, « colonisateurs secondaires ou tardifs », appartiennent principalement aux genres à Gram négatif : *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Porphyromonas*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Treponema*...

Le biofilm dentaire se développe alors en épaisseur. Il existe un équilibre entre la fixation de nouvelles bactéries et la multiplication des bactéries présentes d'une part, et l'élimination de bactéries adhérentes d'autre part. Lorsque le biofilm dentaire n'est pas éliminé, la communauté devient de plus en plus complexe. L'équilibre est atteint en 2 à 3 semaines. À ce stade, le biofilm dentaire peut contenir jusqu'à 10^9 bactéries par mg de matière.

L'accroissement du biofilm, conséquence de la division cellulaire et de la co-adhérence de nouvelles cellules, constitue l'étape de maturation. En réponse aux conditions physico-chimiques de l'environnement, quelques bactéries du biofilm se détachent pour coloniser de nouvelles surfaces, ou sont dégluties.

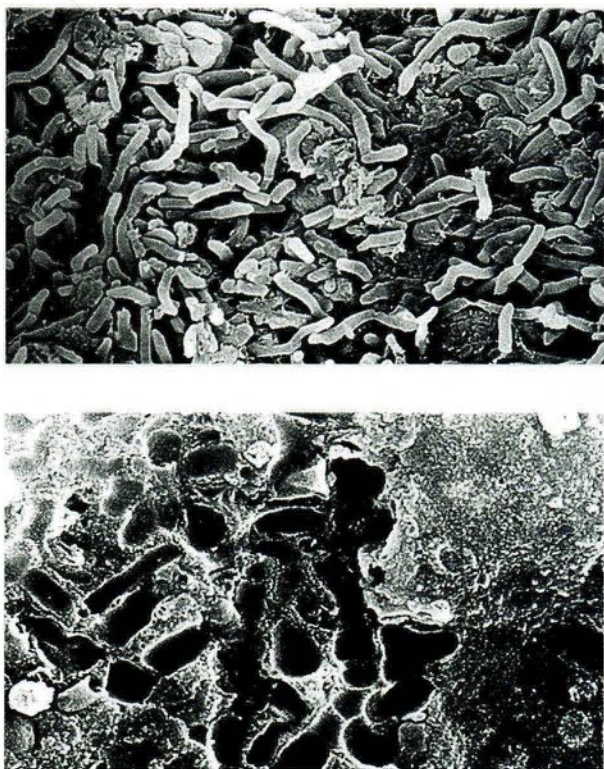
Normalement, les bactéries et l'hôte vivent en harmonie, et la flore buccale est dite commensale, du latin *cum mensa* « manger à la même table ». Lorsqu'il y a homéostasie microbienne, état d'équilibre et de stabilité qui dépend des interactions bactéries-bactéries d'une part et des interactions bactéries-hôte d'autre part, cette flore commensale est une flore de barrière. Elle s'oppose à l'arrivée d'éventuels pathogènes exogènes ou au développement de micro-organismes endogènes pathogènes opportunistes.

La rupture de cet équilibre est à l'origine de la maladie, et plus particulièrement de la carie dentaire et des maladies parodontales. Cette rupture peut être due à des facteurs immunologiques et/ou non immunologiques. Ainsi, les relations mutuelles entre les bactéries de la flore commensale et l'hôte incluent à la fois des conséquences au bénéfice et au détriment de la santé de l'individu.

Évolution du biofilm vers le tartre

Le tartre est défini comme la minéralisation du biofilm produisant des cristaux de différents phosphates de calcium. Le tartre dentaire est principalement composé de minéral, de composants organiques et inorganiques. Les phospholipides représentent 10 % des lipides totaux avec des phosphatidyléthanolamines et des phosphatidylinositols. Ces derniers jouent un rôle important dans la minéralisation de la plaque dentaire. Ils proviennent à la fois de la salive et des constituants membranaires des bactéries (Figure 2.9).

Figure 2.9 : tartre observé au MEB (Microbiologie - Université Rennes 1).



Lors de la phase initiale de minéralisation, le calcium et le phosphate sont disponibles à l'état libre. Les constituants membranaires bactériens et les produits de dégradation des inhibiteurs de nucléation sont requis. Les acides phospholipidiques des membranes des bactéries sont les composants clés de la calcification. À pH physiologique, l'acide phospholipidique a une charge négative et est amphipathique avec une queue hydrophobe et une tête hydrophile. Ces acides se lient au calcium par leur charge négative. Il se forme un complexe calcium-phospholipide-phosphate (CPLX). Une fois formée, l'apatite se dépose si les ions calcium et phosphate sont présents et les inhibiteurs peu élevés. CPLX est toujours présent chez *Corynebacterium matruchotii* et il a été montré *in vitro* que les lipoprotéines purifiées extraites des membranes de *C. matruchotii* induisent la précipitation de calcium. La formation du tartre commence par le dépôt d'OCP et DCPD qui seront hydrolysés et transformés en HAP et WHT moins solubles (Tableau 2.4).

La minéralisation microbienne survient sur des bactéries mortes, vivantes ou en cours de dégénérescence. Seuls les constituants des membranes bactériennes persisteront dans le tartre. La minéralisation peut survenir dans la bactérie ou au sein des espaces intercellulaires. La calcification peut aussi survenir en absence de bactéries. Parmi les hypothèses de calcification, il faut ajouter l'importance du type d'alimentation et la présence d'épis de maïs.

Tableau 2.4 : composition minérale du tartre.

Phosphate octo calcique : $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2\text{SHO}$	OCP
Hydroxyapatite : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	HAP
Phosphate tricalcique β ou whitlockite : $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$	WHT
Brushite ou « DiCalcique Phosphate Dihydrate » : $\text{Ca HPO}_4 - 2 \text{H}_2\text{O}$	DCPD

Mécanismes de la calcification

Un certain nombre de souches présentes dans le tartre présentent une minéralisation intracellulaire comme *Streptococcus salivarius*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* et *Corynebacterium matruchotii*. La formation d'hydroxyapatite dans la cellule de *C. matruchotii*, filament de la plaque dentaire, a été reproduite *in vitro* et cette formation d'hydroxyapatite a été confirmée en microscopie électronique, chez *Escherichia coli*, *Candida albicans* et quelques souches de streptocoques. La composition lipidique de la cellule peut initier la minéralisation. La structure membranaire de *C. matruchotii* peut aussi contribuer au phénomène.

Certains auteurs situent la minéralisation initiale dans la matrice intercellulaire, mais c'est la membrane cytoplasmique qui agit comme site de nucléation. C'est le cas pour *Streptococcus mutans*.

Facteurs favorisants

La minéralisation intracellulaire et la croissance cristalline sont régulées par les activités enzymatiques. À pH alcalin, l'urée sécrétée dans la salive va être hydrolysée et contribue à augmenter le pH de la plaque, ce qui est indispensable à la formation du tartre. *S. salivarius*, *Haemophilus* et *Actinomyces* sont des bactéries à activité uréolytique. Bien que le nombre de ces bactéries soit faible dans la plaque, leur activité est suffisante pour entraîner une uréolyse de la plaque dentaire et donc une précipitation des ions calcium.

Inhibiteurs de la calcification

Quelques bactéries comme *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sont toujours associées à des sites non calcifiables (sans tartre). *A. actinomycetemcomitans* est proposé comme une bactérie à effet inhibiteur sur la colonisation de la plaque et sa calcification.

Le magnésium (Mg^{2+}) prévient la nucléation de l'apatite par les lipoprotéines de *C. matruchotii*. Le zinc, le phosphate et l'albumine ont un moindre effet inhibiteur. Quelques protéines salivaires et les immunoglobulines renforcent ces actions. Les acides organiques rejetés par les bactéries saccharolytiques (ac. lactique) freinent la formation du tartre. En contrepartie, ces inhibiteurs peuvent eux-mêmes être dégradés par des enzymes. Le niveau de tartre est directement corrélé à l'activité protéasique de la salive. Les protéases augmentent le pH de la plaque dentaire. On va retrouver des phosphatases acides et alcalines chez les micro-organismes, dans la salive, dans la plaque et dans le tartre. Elles assurent la croissance du cristal en dégradant le pyrophosphate qui est un inhibiteur.

Structure du tartre

La surface du tartre est recouverte d'une plaque bactérienne à grande diversité d'espèces. Les filaments sont particulièrement nombreux. Ces filaments sont approximativement perpendiculaires à la surface du tartre sur lequel ils s'attachent directement.

Les bactéries filamenteuses de la plaque peuvent avoir la capacité d'inhiber la minéralisation et expliquent la présence de zones non minéralisées dans le tartre. Ces zones sont reliées entre elles par des canaux qui les mettent en communication avec l'extérieur. Quelques bactéries filamenteuses sont retrouvées dans ces zones non minéralisées. La calcification des sites superficiels de la plaque peut avoir comme conséquence l'interruption de l'apport des fluides riches en calcium nécessaires à la calcification des couches profondes. De nombreux canaux et des lacunes abritent des cocci à Gram positif qui ont l'apparence des espèces de staphylocoques qui ont un faible potentiel de minéralisation. Le tartre sous-gingival est fortement minéralisé et ne montre pas d'aire non minéralisée, c'est pourquoi peu de bactéries sont vivantes et les filaments et bacilles ne présentent pas d'organisation précise.

Architecture du biofilm dentaire

L'aptitude des bactéries du biofilm à interagir avec les cellules voisines montre que dans le biofilm la bactérie n'existe pas comme une entité isolée, mais fonctionne comme dans une communauté coordonnée, organisée et intégrée à un métabolisme.

Les techniques modernes de microscopie non invasive, non destructrice, la publication des génomes bactériens et leur annotation, le développement d'outils moléculaires (sondes) combinés avec les expérimentations en laboratoire ou *in vivo* ont modifié la compréhension de l'architecture des biofilms dentaires.

La microscopie confocale à balayage laser confirme que le biofilm dentaire supra-gingival a une architecture aérée, ouverte, semblable à celle des autres biofilms. La viabilité bactérienne varie à l'intérieur du biofilm avec un maximum de bactéries vivantes dans la partie centrale et en bordure des canaux. Les canaux traversent le biofilm dentaire depuis l'extérieur du biofilm jusqu'à la surface dentaire.

Cette architecture ouverte combinée à la synthèse d'une matrice composée d'exopolymères variés crée un environnement complexe favorable à la pénétration et à la distribution de molécules dans le biofilm. Le métabolisme bactérien s'organise pour développer des conditions optimales de croissance. Les différents paramètres comme les nutriments, le pH, l'oxygène restent bénéfiques pour certaines espèces. Les différents gradients ne sont pas nécessairement linéaires, ainsi différentes valeurs de pH existent sur des faibles distances. Cette variabilité environnementale donne la possibilité aux micro-organismes de coexister dans le biofilm dentaire. Chaque micro-environnement est propice au développement d'une espèce bactérienne. Ceci explique pourquoi des micro-organismes avec des besoins métaboliques contraires persistent dans le même site.

Les modèles de biofilm développés par Kolenbrander (2004) montrent que les bactéries de morphotypes différents se regroupent dans un premier temps en micro-colonies juxtaposées. Les masses

bactériennes rentrent plus tard en contact les unes des autres et organisent leur communication. Les différents signaux de communication assurent la survie des communautés et conditionnent l'organisation architecturale. Les communautés latérales et axiales sont composées de plusieurs espèces et de morphologies proches.

Compte tenu de la complexité d'organisation, seuls des outils précis comme les sondes nucléiques permettent de visualiser quelle bactérie est concernée. La combinaison de sondes nucléiques fluorescentes et d'anticorps monoclonaux autorise une visualisation fine de l'architecture du biofilm. Ainsi, en couplant les deux techniques, il a été montré que dans un biofilm les bactéries (*A. naeslundii* et *S. oralis*) mutualisent leurs énergies, et que la croissance indépendante n'est pas la stratégie la plus avantageuse dans la communauté (Tableau 2.5).

Tableau 2.5 : bénéfices de la vie en communauté dans un biofilm.

- Un grand nombre de paramètres favorables à la croissance : la consommation d'O₂ par les bactéries aérobies est favorable aux espèces anaérobies.
- Un métabolisme efficace : les macromolécules de l'hôte peuvent être dégradées par un consortium de bactéries orales.
- Une augmentation de la résistance aux stress et aux agents antimicrobiens.
- Une augmentation de la virulence.

Particularités de la vie en biofilm

La communication interspécifique

Les bactéries ont évolué avec leur hôte pour établir une relation sophistiquée dans laquelle à la fois les bactéries pathogènes et mutualistiques cohabitent. Le fait que certaines bactéries buccales ne soient pas retrouvées hors de la bouche, sauf pour des pathogènes ubiquitaires de l'organisme, montre l'importance des relations.

Dans le biofilm, les échanges inter-spécifiques entre les différentes espèces permettent de comprendre comment le biofilm peut agir en unité spécifique et comment des bactéries spécifiques apparaissent et échappent aux défenses de l'hôte. Les interactions physiques (co-agrégations et co-adhérences), métaboliques et physiologiques (expression génétique et signaux cellules à cellules) entraînent une coopération positive entre les différentes espèces du biofilm.

En plus des interactions conventionnelles, les bactéries communiquent les unes avec les autres par des molécules diffusibles. Entre autres, ces molécules informent les bactéries de la densité cellulaire. Ce système appelé « quorum sensing » est considéré comme un mécanisme de régulation dans l'adaptation écologique et dans la pathogénicité. Entre des espèces différentes, les molécules responsables du quorum sensing appartiennent aux « auto inducers 2 » (AI 2) pour le différencier des AI 1 propres aux bactéries génétiquement identiques. Il n'existerait pas de production d'AI 1 par les bactéries buccales. Ces AI 2 donnent des informations sur la densité bactérienne. Elles diffusent à travers l'enveloppe bactérienne et lorsqu'un seuil est atteint, elles provoquent l'activation de régulateurs transcriptionnels qui déclenchent l'expression de gènes cibles. Ces voies de signalisation permettent ainsi l'adaptation et la survie des bactéries dans des environnements variés dépendants de la densité cellulaire, et régulent l'expression de différents gènes. Des AI 2 sont impliqués dans la régulation de gènes chez plusieurs espèces bactériennes dont *A. actinomycetemcomitans* et *P. gingivalis*. Le gène *luxS* qui encode une enzyme essentielle pour la production des AI 2 est présent chez plusieurs bactéries orales et *E. nucleatum*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, produisent AI 2. Il est possible que AI 2 joue un

rôle central dans la régulation des gènes au sein du biofilm dentaire. AI 2 serait un signal universel entre différentes espèces bactériennes. Chez *S. mutans*, un peptide CSP (*Competence Stimulating Peptide*) est impliqué dans la densité cellulaire. Ce système de quorum sensing fonctionne aussi pour réguler la tolérance acide des biofilms constitués de *S. mutans*. D'autres recherches doivent identifier des réseaux de communications plus sophistiquées et il a été suggéré que des analogues des molécules de signalisation pourraient être utilisés comme agent thérapeutique pour modifier les propriétés des biofilms.

Le transfert horizontal de gènes complète la communication entre les bactéries dans le biofilm. Le biofilm dentaire fonctionnerait comme un « réservoir génotypique » par l'intermédiaire des éléments mobiles tels que les transposons et des gènes. De tels échanges génétiques pourraient avoir une signification plus large compte tenu du nombre de bactéries pathogènes qui transitent dans la cavité buccale. Les molécules de signalisation telles que les CSPs augmentent la possibilité pour les cellules réceptives de transférer des ADN. Les transformations de *S. mutans* dans un biofilm sont 10 à 600 fois plus fréquentes que dans une culture planctonique. Les cellules lysées dans le biofilm peuvent agir comme donneur d'ADN chromosomique et augmentent la possibilité de transfert horizontal des gènes. L'ADN est aussi un nutriment pour le biofilm en croissance et vraisemblablement l'ADN extracellulaire joue un rôle dans l'organisation du biofilm buccal, comme cela a été démontré pour d'autres biofilms.

La compétition et l'antagonisme

Ces mécanismes permettent de prévenir la croissance excessive de certaines espèces bactériennes, ou l'établissement dans la cavité buccale de bactéries allochtones. Il est plus difficile d'implanter une bactérie chez un animal conventionnel que chez un animal axénique ou traité par des antibiotiques. L'effet barrière des bactéries autochtones contre les bactéries allochtones et les espèces pathogènes est connu comme un moyen de résistance à la colonisation. La compétition pour des récepteurs d'adhérence ou pour des nutriments et la production de substances inhibitrices réduisent la colonisation bactérienne et préviennent l'excès de croissance. Des bactéries rivales voulant s'approprier une même ressource (espace, nutriment...) mettent en jeu des mécanismes d'inhibition de croissance (mécanismes d'antibiose), tels que les bactériocines ou les produits du métabolisme bactérien. Les bactériocines sont des protéines bactéricides dont le spectre d'action est réduit à l'espèce qui les sécrète, ou aux espèces proches. Elles jouent un rôle limité car elles sont rapidement inactivées par les protéases salivaires. Ainsi, *Streptococcus mutans* sécrète des mutacines actives sur les streptocoques oraux et sur *Actinomyces naeslundii*, ou encore *Streptococcus sanguinis* sécrète des sanguicines inhibitrices de *S. mutans*. Récemment, plusieurs expériences *in vivo* ont montré que la production de bactériocines confère un avantage écologique. Il est plus facile d'implanter une souche de *S. mutans* qui produit des bactériocines dans la cavité buccale, qu'une souche qui n'en produit pas. Ces peptides doivent influencer l'écosystème, mais les mécanismes ne sont pas encore connus. On sait cependant que la production de bactériocines et la co-adhérence sont des phénomènes indépendants.

Les produits du métabolisme bactérien peuvent inhiber la croissance de certaines espèces bactériennes. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit par *Streptococcus sanguinis* et *Streptococcus uberis* est un inhibiteur de croissance d'*Actinobacillus actinomycetemcomitans* et les bactéries acidogènes excluent de l'habitat les bactéries non aciduriques. Cet antagonisme bactérien peut protéger l'hôte vis-à-vis de pathogènes exogènes, contribuant ainsi à sa santé générale. C'est le cas de *Streptococcus mitis* qui inhibe la croissance de *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus salivarius* ou d'*Escherichia coli*.

Expression des gènes

Dans un biofilm, les bactéries ont un phénotype distinct de celui qu'elles présentent lorsqu'elles sont cultivées en milieu liquide. La liaison des bactéries à des récepteurs spécifiques fait varier à la fois l'expression des gènes des bactéries et des cellules de l'hôte. Ainsi, lorsque *S. gordonii* est exposé à la salive, les gènes (*sspA/B*) qui encodent des adhésines pour les glycoprotéines salivaires sont très exprimés et engagent la co-adhérence avec les actinomyces spp. De façon similaire, les gènes associés aux synthèses des glycanes (*gtfBC*) et des fructanes (*fif*) chez *S. mutans* sont régulés de façon différente dans le biofilm. Par une approche protéomique sur des cellules entières de *S. mutans*, il a été montré un changement des profils protéiques : les protéines impliquées dans les sécrétions, la synthèse d'acides aminés, d'acide gras, et la division cellulaire sont surexprimées dans le biofilm par rapport aux cultures planctoniques. De plus, des protéines de fonction inconnue sont présentes dans le biofilm, mais pas dans la culture planctonique. Ainsi, la croissance du biofilm a une influence directe ou indirecte sur l'expression des gènes chez les bactéries orales.

Résistance microbienne

Actuellement, la résistance des bactéries aux agents antibactériens est en augmentation. Ceci est surtout décrit pour les bactéries qui se développent sur des surfaces. Traditionnellement, la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens est évaluée par la mesure de la concentration minimale inhibitrice ou bactéricide. Du fait de l'argument précédent, il serait plus pertinent de déterminer la concentration minimale inhibitrice d'un biofilm (*biofilm eradicating concentration*), mais il n'existe pas encore de méthodes standardisées pour déterminer cette concentration.

Les bactéries du biofilm dentaire montrent aussi une augmentation des résistances aux agents antimicrobiens y compris les agents inclus dans les dentifrices et les solutions de bain de bouche. Par exemple, quand *S. sobrinus* est cultivé en biofilm la concentration inhibitrice pour les amines fluorées et la chlorhexidine est 75 à 300 fois plus élevée, comparée à la concentration minimale inhibitrice des cellules planctoniques. De la même façon, il est nécessaire d'administrer 10 à 50 fois la concentration minimale inhibitrice de chlorhexidine pour éliminer *S. sanguinis* cultivé en biofilm. L'âge du biofilm est aussi un facteur significatif : les «vieux» biofilms de 72 heures de *S. sanguinis* sont plus résistants à la chlorhexidine que les plus jeunes (24 heures). Les études en microscopie confocale avec hybridation *in situ* sur des biofilms naturels montrent que la chlorhexidine affecte seulement les couches externes des cellules d'un biofilm de 24-48 heures. Les biofilms sont aussi plus résistants aux antibiotiques tels que l'amoxicilline, la doxycycline, le métronidazole. Les mécanismes pour expliquer l'augmentation des résistances ne sont pas connus et sont l'objet de nombreuses recherches et débats :

- les cellules peuvent devenir résistantes par transfert horizontal de gènes qui affectent la cible de l'agent antimicrobien, d'enzymes inhibitrices... mais même des bactéries naturellement sensibles deviennent résistantes quand elles sont cultivées sur des surfaces;
- la structure du biofilm doit restreindre la pénétration de l'agent antimicrobien;
- quelques inhibiteurs chargés peuvent s'opposer à des charges opposées des polymères constitutifs de la matrice du biofilm;
- l'agent antimicrobien peut aussi se lier rapidement aux bactéries de surface et ne pas pénétrer les assises profondes;
- les bactéries qui poussent sur une surface exhibent un nouveau phénotype et il peut en résulter une sensibilité réduite pour ces agents;
- les effets d'une communauté bactérienne peuvent rendre une bactérie sensible à un agent «apparemment résistant» si les cellules de voisinage, non pathogènes, produisent un neutralisant ou une

enzyme dégradant l'agent antimicrobien. Exemple dans la cavité buccale, le fluide gingival contient suffisamment de β -lactamases pour inactiver la concentration d'antibiotiques délivrés sur le site; – les bactéries dans le biofilm utilisent des stratégies métaboliques alternatives. À l'heure actuelle, il n'est pas clairement établi si les effets observés sont dus à un seul phénomène ou à plusieurs combinés pour expliquer l'acquisition de la résistance.

Références bibliographiques

- Donlan RM, Costerton JW : Biofilms : survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15 (2) : 167-93.
- Dunne WM Jr : Bacterial adhesion : seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev* 2002; 15 (2) : 155-66.
- Egland PG, Palmer RJ Jr, Kolenbrander PE : Interspecies communication in *Streptococcus gordonii*-*Veillonella atypica* biofilms : signaling in flow conditions requires juxtaposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (48) : 16917-22.
- Filоче SK, Zhu M, Wu CD : In situ biofilm formation by multi-species oral bacteria under flowing and anaerobic conditions. *J Dent Res* 2004; 83 (10) : 802-6.
- Foster JS, Palmer RJ Jr, Kolenbrander PE : Human oral cavity as a model for the study of genome-genome interactions. *Biol Bull* 2003; 204 (2) : 200-4.
- Haffajee AD, Japlit M, Bogren A, Kent RL Jr, Goodson JM, Socransky SS : Differences in the subgingival microbiota of Swedish and USA subjects who were periodontally healthy or exhibited minimal periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2005; 32 (1) : 33-9.
- Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P : Bacterial biofilms : from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2 (2) : 95-108.
- Hamada T, Kawashima M, Watanabe H, Tagami J, Senpuku H : Molecular interactions of surface protein peptides of *Streptococcus gordonii* with human salivary components. *Infect Immun* 2004; 72 (8) : 4819-26.
- Jin Y, Yip HK : Supragingival calculus : formation and control. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13 (5) : 426-41.
- Kilic AO, Tao L, Zhang Y, Lei Y, Khammanivong A, Herzberg MC : Involvement of *Streptococcus gordonii* beta-glucoside metabolism systems in adhesion, biofilm formation, and in vivo gene expression. *J Bacteriol* 2004; 186 (13) : 4246-53.
- Kolenbrander PE : Oral microbial communities : biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54 : 413-37.
- Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ Jr : Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66 (3) : 486-505, table of contents.
- Kolenbrander PE, Egland PG, Diaz PI, Palmer RJ Jr : Genome-genome interactions : bacterial communities in initial dental plaque. *Trends Microbiol* 2005; 13 (1) : 11-5.
- Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, et al. : Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004; 97 (6) : 1311-8.
- Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS : Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 2003; 30 (7) : 644-54.
- Marsh PD : Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* 2003; 149 (Pt 2) : 279-94.
- Marsh PD : Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004; 38 (3) : 204-11.

- Parsek MR, Singh PK : Bacterial biofilms : an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol* 2003; 57 : 677-701.
- Ramberg P, Sekino S, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J : Bacterial colonization during de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* 2003; 30 (11) : 990-5.
- Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS : Bacterial coaggregation : an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol* 2003; 11 (2) : 94-100.
- Rudiger SG, Carlen A, Meurman JH, Kari K, Olsson J : Dental biofilms at healthy and inflamed gingival margins. *J Clin Periodontol* 2002; 29 (6) : 524-30.
- Rudney JD, Chen R : Human salivary function in relation to the prevalence of *Tannerella forsythia* and other periodontal pathogens in early supragingival biofilm. *Arch Oral Biol* 2004; 49 (7) : 523-7.
- Sbordone L, Bortolaia C : Oral microbial biofilms and plaque-related diseases : microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clin Oral Investig* 2003; 7 (4) : 181-8.
- Sekino S, Ramberg P, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J : The effect of a chlorhexidine regimen on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* 2004; 31 (8) : 609-14.
- Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Martin L, Haffajee JA, Uzel NG, et al. : Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19 (6) : 352-62.
- Sreenivasan PK, Mattai J, Nabi N, Xu T, Gaffar A : A simple approach to examine early oral microbial biofilm formation and the effects of treatments. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19 (5) : 297-302.
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW : Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56 : 187-209.
- Wang BY, Kuramitsu HK : Interactions between oral bacteria : inhibition of *Streptococcus mutans*. Bacteriocin production by *Streptococcus gordonii*. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71 (1) : 354-62.

La flore buccale au cours de la vie

(P. Gracieux, J.-C. Robert, M. Bonnaure-Mallet)

Pour un individu, la naissance est la limite entre la vie intra-utérine stérile et la vie extra-utérine où il y a exposition continue aux micro-organismes via les autres individus, les animaux et l'environnement. À la naissance, la plupart des bactéries sont seulement des colonisateurs de passage, tandis que d'autres rencontrent une surface propice pour une colonisation définitive. Les enfants avec un écosystème buccal en développement sont particulièrement favorables à la colonisation microbienne. En effet, les anticorps spécifiques susceptibles d'empêcher l'adhérence bactérienne sont présents en très faible quantité pendant la petite enfance.

Durant les premiers mois de la vie, seules les muqueuses peuvent être colonisées, ce qui limite le nombre de sites donc d'espèces. Les facteurs d'inhibition propres à l'habitat buccal, de nature physique (cellules épithéliales desquamantes, flux salivaire) et chimique (potentiel d'oxydo-réduction, pH, propriétés antibactériennes de la salive) exercent un rôle de sélection à l'égard des bactéries transmises. La succession des espèces bactériennes et leur implantation sont liées aux différentes périodes favorables à leur établissement dans la cavité buccale.

Les différences individuelles observées dans les modes de colonisation buccale chez l'enfant dépendent de son entourage. Les transferts bactériens sont assurés au sein d'une même famille par des contacts salivaires directs ou indirects pendant les activités quotidiennes. En effet, la transmission des micro-organismes se ferait essentiellement par la salive de la mère et du père, et éventuellement des proches de l'enfant. Cependant, seules les méthodes de biologie moléculaire permettent de préciser l'origine de l'espèce (études de clonalité).

Au total, les facteurs qui favorisent la colonisation sont les contacts fréquents et répétés, un inoculum de taille suffisante, un site propice pour l'adhérence, des nutriments disponibles en quantité suffisante dans la cavité buccale et une période « réceptive ». Les facteurs qui précisent les raisons pour lesquelles telles ou telles bactéries vont persister, s'installer et résider dans la cavité buccale ne sont pas connus.

Colonisation primaire

La première contamination de la cavité buccale du nouveau-né se fait à l'accouchement, par les bactéries de la flore vaginale de la mère (essentiellement des lactobacilles). Puis, la bouche est contaminée par de nombreuses bactéries présentes à l'état libre. L'apport de bactéries est dépendant de l'environnement de l'enfant : ainsi le mode de « délivrance » des aliments aussi bien que la prise d'antibiotiques sont des facteurs qui influencent la colonisation bactérienne dans l'écosystème en développement. La microflore buccale chez les nouveau-nés prématurés qui restent longtemps à l'hôpital est différente du nourrisson « normal ». La colonisation du premier groupe de bactéries, les streptocoques oraux, est décalée dans le temps chez les enfants prématurés et est transitoirement compensée par la colonisation inhabituelle de levures.

La plupart des bactéries qui entrent dans la cavité buccale ne sont que de passage. Ce sont les particularités de l'écosystème buccal, c'est-à-dire les déterminants écologiques buccaux, qui permettent la sélection des souches bactériennes qui vont véritablement s'installer, coloniser la cavité buccale.

Avant l'éruption des dents

La bouche du nouveau-né n'a que des muqueuses, donc, pour la coloniser, les bactéries doivent avoir une affinité pour les cellules épithéliales et supporter un environnement aérobic. Les espèces pionnières prédominantes sont *Streptococcus mitis* biovar 1 et *Streptococcus salivarius*. *S. mutans* est présent chez 50 % des nourrissons de moins de 6 mois non dentés. *Actinomyces odontolyticus* est le premier colonisateur du genre *Actinomyces*. *Veillonella* spp et *Prevotella melaninogenica* sont les premières anaérobies strictes. *F. nucleatum*, *Prevotella* spp non pigmentés et *Porphyromonas catoniae* sont des bactéries anaérobies retrouvées dans quelques cas de bouches non dentées.

L'installation de communautés pionnières a créé de nouvelles surfaces disponibles pour l'adhésion de nouvelles espèces bactériennes. Leur activité métabolique modifie l'environnement, ce qui sélectionne de nouvelles populations. Une communauté est remplacée par une autre encore plus complexe.

La succession des espèces bactériennes dans la cavité buccale supporte le concept d'interactions spécifiques notamment nutritionnelles entre les bactéries. Avant l'âge de 4 ans, les enfants ont une microflore buccale variée (Tableau 2.6).

Tableau 2.6 : espèces ou groupes bactériens observés dans la bouche d'enfants.

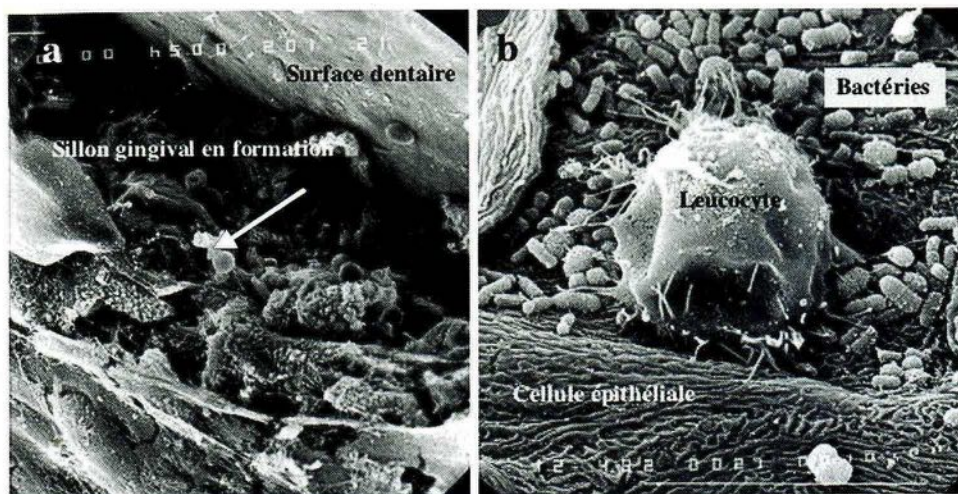
Âge	Espèces aérobies/facultatives	Espèces anaérobies strictes
0-6 mois	<i>A. viscosus</i>	<i>Actinomyces graevenitzii</i>
	Bâtonnets à Gram négatif (entérique ou de l'environnement)*	<i>A. odontolyticus</i>
	<i>Haemophilus</i> spp.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
	<i>Neisseria</i> spp.	<i>Prevotella</i> non-pigmenté spp.
	Staphylocoques*	<i>Prevotella melaninogenica</i>
	<i>Stomatococcus</i> spp.	<i>Porphyromonas catoniae</i>
	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Veillonella</i> spp.
	<i>S. salivarius</i>	
6-12 mois	<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Actinomyces gerencseriae</i>
	<i>A. viscosus</i>	<i>A. graevenitzii</i>
	<i>S. oralis</i>	<i>A. odontolyticus</i>
	<i>S. sanguinis</i>	
	Bâtonnets	
1-3 ans	<i>A. naeslundii</i>	<i>A. georgiae</i>
	<i>A. viscosus</i>	<i>A. gerencseriae</i>
	<i>Capnocytophaga</i> spp.	<i>A. graevenitzii</i>
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>A. odontolyticus</i>
		<i>Leptotrichia</i> spp.
		Autres fusobactéries
		<i>Peptostreptococcus</i> spp.
		<i>Prevotella nigrescens</i>
		<i>P. pallens</i>
		<i>Selenomonas</i> spp.

* La prévalence diminue avec l'âge

Denture lactéale et denture mixte

Vers l'âge de 6 mois, l'enfant n'a plus les anticorps de sa mère (IgG sériques), mais ses défenses immunitaires propres, IgA salivaires et IgG sériques, sont progressivement stimulées et vont conditionner, en partie, l'installation de la flore buccale. À cette période, les dents lactéales font leur éruption, créant un bouleversement écologique, avec de nouveaux habitats (surfaces dures non desquamantes et sillons gingivo-dentaires), de nouveaux nutriments, mais aussi de nouveaux facteurs de défense, en provenance du fluide gingival, et du sang dû aux effractions muqueuses (Figure 2.10). Les espèces pionnières majeures, après éruption dentaire, sont *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. oralis*. L'incidence des streptocoques du groupe *mutans* augmente avec l'augmentation du nombre de surfaces dentaires. Ils colonisent préférentiellement la cavité buccale au moment de l'éruption des molaires lactéales, entre 19 et 33 mois. L'apparition des dents définitives, avec des caractères anatomiques plus marqués que les dents lactéales (sillons occlusaux et sulci plus profonds, points de contact), offre aux bactéries des habitats plus variés et permettent un développement plus important du biofilm dentaire. La chute des dents lactéales et l'éruption des dents définitives créent des phénomènes inflammatoires et des pseudo-poches rappelant la maladie parodontale. Cette période favoriserait la colonisation par des bactéries anaérobies et permettrait à l'enfant d'augmenter ses défenses immunitaires vis-à-vis de ces bactéries. Plusieurs études montrent qu'un enfant sur deux a des anticorps IgG anti-*Porphyromonas gingivalis*.

Figure 2.10 : colonisation microbienne lors de l'éruption d'une molaire de rat observée en MEB. La flèche indique la zone de grossissement de la figure b. (Microbiologie - Université Rennes 1).



Denture permanente

À l'adolescence, des bouleversements hormonaux, avec une augmentation de progestérone et d'œstradiol dans le sang, modifient la flore. En effet, ces hormones, qui se retrouvent dans le fluide gingival, sont des facteurs de croissance pour certaines espèces de *Porphyromonas* et de *Prevotella*. La

prévalence de *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga*, *Treponema denticola* est particulièrement élevée chez les enfants d'âge pubertaire.

Une fois installée, la flore buccale n'est pas statique, mais elle évolue au cours de la vie de l'individu. De nombreux facteurs influencent l'écosystème buccal et en conséquence modifient la flore buccale. On peut citer le régime alimentaire, les changements hormonaux (grossesse, ménopause, andropause), les traitements dentaires (caries, maladies parodontales, perte de dents, matériaux de reconstitution ou prothèses dentaires), les habitudes nocives (alcool, tabac, drogues), les modifications physiologiques dues au vieillissement (affaiblissement du système immunitaire, diminution des sécrétions endocrines), les modifications pathologiques (pathologies générales, prise de médicaments).

Stabilité des clones bactériens

Les méthodes de biologie moléculaire sont nécessaires pour déterminer la stabilité des espèces bactériennes au niveau clonal. Pour les pionniers commensaux tels que *S. mitis* biovar 1 et *P. melaninogenica* il existe une diversité clonale importante.

Au contraire, une hétérogénéité intra-individuelle limitée semble exister parmi les colonisateurs secondaires tels que *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* et *Prevotella pallens*.

Une fois établies, les espèces bactériennes tendent à persister dans la cavité buccale. Au niveau clonal, le taux de renouvellement semble être élevé pendant l'enfance. Parmi les quelque 600 *S. mitis* biovar 1 isolés chez 2 familles, avec 2 enfants collectés 4 fois à 3 mois d'intervalle, seuls quelques clones persistants ont été retrouvés chez l'adulte, mais aucun chez l'enfant. Au contraire, une étude récente montre une remarquable persistance de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* qui est principalement isolé chez l'adolescent souffrant de parodontite juvénile. Ces différentes espèces bactériennes ont des dynamiques de population différentes (Tableau 2.7).

Tableau 2.7 : espèces bactériennes isolées de la cavité buccale d'enfants de moins de 6 ans, avec des similitudes clonales dans les paires parents/enfants.

Âge des enfants	Bactérie	Paire présentant des clones similaires par paires examinées		Méthode de génotypage
		Mère-enfant	Père-enfant	
2-7 mois	<i>Prevotella melaninogenica</i>	2/9	ND	Ribotypage
10 mois	<i>Streptococcus mitis</i> biovar 1	1/1	0/1	REA
2-3 ans	<i>Prevotella melaninogenica</i>	5/11	ND	Ribotypage
2-3 ans	<i>Prevotella pallens</i>	2/5	ND	AP-PCR
3 ans	<i>Streptococcus mutans</i>	6/11	0/11	REA
3-6 ans	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	3/3	3/3	Ribotypage
4-6 ans	<i>Prevotella nigrescens</i>	1/3	1/3	Ribotypage
5 ans	<i>Prevotella intermedia</i>	1/1	0/1	Ribotypage
5-6 ans	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	2/2	4/4	Ribotypage

ND : non déterminé - REA : Restriction Endonuclease Analysis - AP-PCR : Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction ; (Kononen, 2000)

Interactions flore-hôte (H. Chardin)

Introduction

Chez un homme adulte, les muqueuses atteignent une surface globale de 400 m². Dès la naissance, elles sont rapidement colonisées par des micro-organismes qui constituent une flore commensale dont la composition varie selon les conditions environnementales. Ainsi, différentes flores se constituent selon le site anatomique (flore buccale, flore digestive, flore vaginale...) puis évoluent en fonction de facteurs généraux ou locaux (âge, imprégnation hormonale, traitements médicamenteux...). Dans la cavité buccale, on distingue différentes niches écologiques (surfaces muqueuses, surfaces dentaires ou sillon gingivo-dentaire), qui hébergent des populations bactériennes différentes. Ainsi, certaines bactéries apparaissent avec les dents et disparaissent avec elles, d'autres se développent préférentiellement dans le sillon gingivo-dentaire sous l'influence de facteurs sériques présents dans l'exsudat sulculaire, alors que d'autres ont un tropisme muqueux (§ Écosystème buccal).

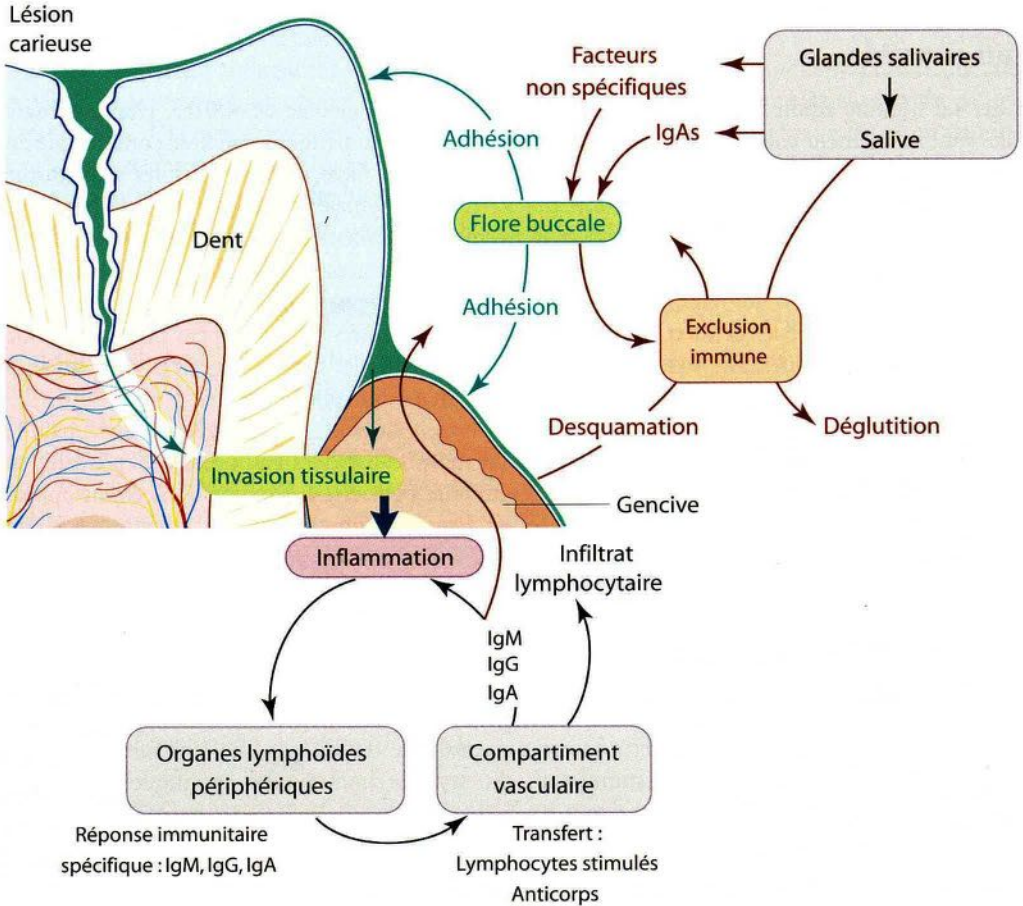
Normalement présente sur les muqueuses, la flore commensale n'est pas pathogène; en occupant l'espace, elle assure un rôle de barrière limitant l'installation de bactéries pathogènes. Cependant, si sa prolifération n'est pas suffisamment contrôlée, cette flore peut être à l'origine d'infections opportunistes. Le maintien de l'intégrité des muqueuses est assuré par un ensemble de mécanismes innés et acquis regroupés sous le terme d'«exclusion immune». L'exclusion immune comporte une élimination mécanique des micro-organismes, une inhibition physico-chimique par les sécrétions muqueuses, et une neutralisation par des facteurs spécifiques : les IgA sécrétoires. En conditions normales, l'exclusion immune permet de maintenir un équilibre entre la prolifération de la flore commensale et l'intégrité du revêtement épithélial muqueux. Si l'équilibre est rompu, la prolifération des micro-organismes présents ou l'arrivée d'agents pathogènes peuvent conduire à la pénétration de micro-organismes dans les tissus. Cette invasion tissulaire se traduit par une réponse locale inflammatoire immédiate, associée à la stimulation du système immunitaire spécifique. Les facteurs immunitaires non spécifiques et spécifiques produits contribuent à circonscrire l'infection et à éliminer les micro-organismes.

Dans la cavité buccale, la prolifération microbienne est limitée par la desquamation des cellules épithéliales muqueuses, l'effet mécanique de chasse salivaire lors de la déglutition, les facteurs chimiques antibactériens, les facteurs salivaires d'agrégation et les IgA sécrétoires. Les tissus de recouvrement des dents qui constituent des surfaces stables non desquamantes sont propices à la formation de biofilms bactériens : les plaques dentaires. Si les conditions environnementales locales favorisent la prolifération de certaines bactéries présentes dans la plaque, les facteurs d'exclusion immune deviennent insuffisants pour contrôler cette prolifération. Ainsi, les plaques bactériennes supra et sous-gingivales peuvent être à l'origine de pathologies infectieuses dentaires (carie) et parodontales (parodontopathies). Lorsque des micro-organismes envahissent les tissus pulpaux ou parodontaux, la réponse tissulaire se traduit par une réponse inflammatoire locale immédiate et une stimulation du système immunitaire spécifique (Figure 2.11).

L'exclusion immune

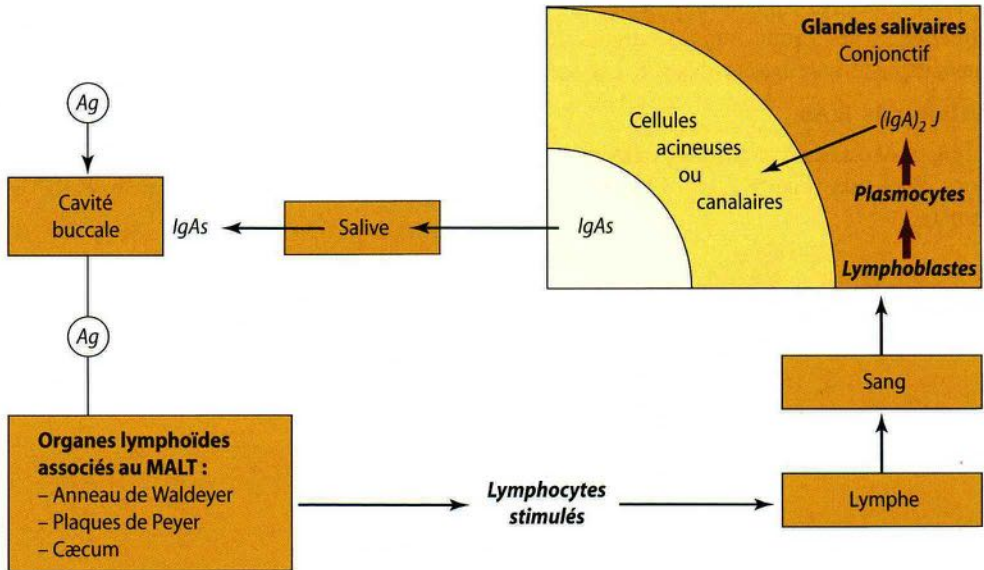
Par analogie avec l'immunité interne, l'exclusion immune se définit comme l'ensemble des mécanismes immunitaires innés et acquis qui permettent d'éviter la pénétration d'agents microbiens dans

Figure 2.11 : interactions flore-hôte dans la cavité buccale.



les tissus. L'exclusion immune permet de maintenir l'équilibre entre la flore commensale et les tissus périphériques cutanés et muqueux; elle est non inflammatoire et protège contre l'invasion par des agents pathogènes. Les facteurs innés, non spécifiques, qui concourent à l'intégrité des tissus périphériques de la cavité buccale comprennent des éléments physiques, chimiques et cellulaires. L'exclusion immune spécifique est due aux immunoglobulines présentes dans le fluide buccal, en particulier aux immunoglobulines A sécrétées (IgAs). La production des IgAs résulte de la stimulation d'organes lymphoïdes secondaires associés aux muqueuses (MALT = *Mucosa-Associated Lymphoid Tissues*) qui regroupent, selon le site anatomique, des tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT = *Gut-Associated Lymphoid Tissues*), aux bronches (BALT = *Bronchus-Associated Lymphoid Tissues*), aux tissus naso-pharyngés (NALT = *Nasal-Associated Lymphoid Tissues*) ou à la trompe d'Eustache (TALT = *Eustachian Tube-Associated Lymphoid Tissues*). La stimulation antigénique des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses induit la prolifération et la différenciation de lymphocytes T et B spécifiques des antigènes et leur migration vers les sites sécréteurs. Les lymphocytes B stimulés se différencient en plasmocytes sécrétant des IgA dans le conjonctif qui entoure les glandes exocrines. Les IgA sont ensuite transférées du conjonctif vers les sécrétions par les cellules sécrétrices (Figure 2.12).

Figure 2.12 : mode de production des IgAs salivaires (Ag = antigène).



Les facteurs non spécifiques

Les tissus de la cavité buccale sont colonisés par une flore commensale et baignés par le fluide buccal qui est composé des salives sécrétées par les glandes salivaires majeures et mineures, auxquelles s'ajoute le fluide gingival. Le maintien de l'équilibre de l'écosystème buccal est dû principalement aux facteurs salivaires. Le fluide gingival, exsudat d'origine sérique rapidement dilué dans la salive, participe très peu aux défenses périphériques, mais joue un rôle dans l'homéostasie du sillon gingivo-dentaire. Par ses propriétés physico-chimiques, le fluide buccal joue un rôle majeur dans la protection des tissus. D'un point de vue mécanique, il permet l'élimination du contenu de la cavité buccale par effet de chasse lors de la déglutition. Par leurs propriétés visco-élastiques, les mucines salivaires participent à la lubrification des tissus périphériques, et les protègent de la dessiccation et des substances irritantes ou toxiques. D'un point de vue chimique, la salive contient différentes molécules ayant des propriétés antimicrobiennes : des enzymes comme le lysozyme ou la peroxydase, de la lactoferrine, et des peptides antibactériens comme les défensines, les histatines et la cathélicidine.

La présence de la flore commensale non pathogène est un élément de protection contre l'installation d'agents pathogènes dans la mesure où elle occupe l'espace, utilise les nutriments présents et excrète des facteurs qui peuvent limiter le développement d'autres micro-organismes.

L'épithélium de recouvrement est la limite entre l'immunité périphérique externe et l'immunité centrale interne. Il joue un rôle de barrière mécanique grâce à sa kératinisation et à la desquamation cellulaire, il sera le premier à émettre des signaux lors de la pénétration de micro-organismes.

L'exclusion immune spécifique : les IgAs

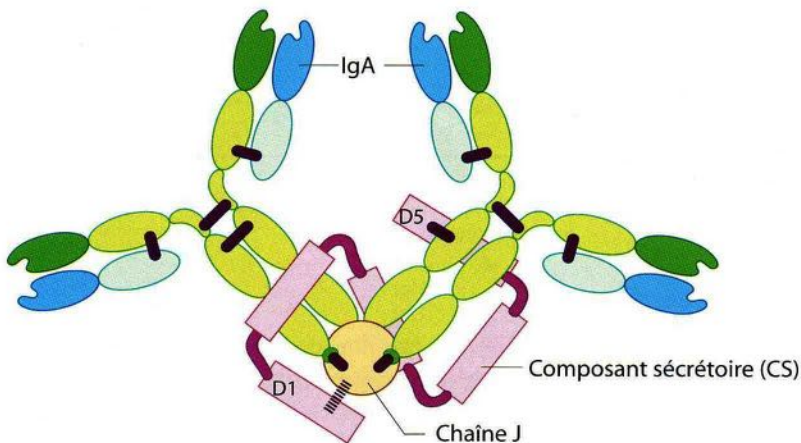
Le fluide buccal contient des IgAs, des IgA, des IgG et des IgM. Les IgM, IgG et IgA sont d'origine sérique et gagnent le fluide buccal par le fluide gingival. Ces immunoglobulines sont le reflet des immunoglobulines circulantes du sang, leur quantité dans la salive est extrêmement faible et leur spé-

cificité dépend des stimulations préalables du système immunitaire général; elles participent peu à l'exclusion immune. Au contraire, les IgAs sont produites en réponse à une stimulation antigénique périphérique, elles seront donc spécifiques des antigènes présents dans la cavité buccale ou, plus largement, dans le tractus aéro-digestif. Les IgAs sont les effecteurs de l'exclusion immune spécifique.

Structure des IgAs

Les IgAs sont des polymères d'IgA associés à une pièce J et un composant sécrétoire (CS) par des liaisons covalentes (Figure 2.13). Quatre-vingt-dix pour-cent des IgAs sont des dimères et 10 % des tétramères.

Figure 2.13 : structure d'une IgA sécrétoire.



Chaque IgA est composée de deux chaînes lourdes (H = *Heavy*) et deux chaînes légères (L = *Light*). Les chaînes lourdes possèdent un domaine variable amino-terminal V_H et trois domaines constants CH_1 , CH_2 et CH_3 . Une région charnière linéaire (h = *Hinge*) est intercalée entre les domaines CH_1 et CH_2 et un peptide queue (t = *Tail*) de 18 acides aminés succède au domaine CH_3 à l'extrémité carboxy-terminale de la molécule. Le peptide queue confère à la molécule sa capacité de polymérisation. Les chaînes légères possèdent un domaine variable amino-terminal V_L et un domaine constant CL . Le site anticorps, ou site de liaison à l'antigène aussi appelé « paratope », est constitué par l'association des parties variables des chaînes lourdes et légères.

Il existe chez l'homme deux sous-classes d'IgA* : les IgA1 et les IgA2. À cette variabilité isotypique s'ajoute une variabilité allotypique pour les IgA2 avec deux allotypes décrits : IgA2m1 et IgA2m2 (Figure 2.14). IgA1 et IgA2 se distinguent par la structure de leur région charnière. Les IgA1 possèdent une région charnière de 26 acides aminés, alors que les IgA2 présentent une région charnière plus courte par délétion de 13 acides aminés. Cette délétion est associée à une plus faible glycosylation par la perte de cinq sérines qui constituent des sites d'O-glycosylation chez les IgA1. Les IgA2 sont plus résistantes aux protéases bactériennes car certaines de ces enzymes clivent les IgA1 dans leur région charnière. Les glandes salivaires sécrètent approximativement 60 % d'IgA1 et 40 % d'IgA2, ce qui est équivalent à ce qui est produit par la glande mammaire. La proportion d'IgA2 produites dans les sécrétions nasales, bronchiques ou intestinales est nettement inférieure, ne dépassant pas 25 %.

Figure 2.14 a : schématisation de la molécule d'anticorps. Une molécule d'anticorps est constituée de deux chaînes lourdes (H = heavy) et de deux chaînes légères (L = light). Les chaînes lourdes, identiques entre elles, sont constituées d'un domaine variable (V_H) et de trois (ou quatre) domaines constants (C_H1 , C_H2 et C_H3). Une région charnière (h = hinge) sépare les domaines C_H1 et C_H2 . Les chaînes légères, identiques entre elles, sont constituées d'un domaine variable (V_L) et d'un domaine constant (C_L). L'association des régions hypervariables des domaines V_H et V_L constitue le site anticorps ou paratope. Le clivage par la papaïne conduit à deux types de fragments : un fragment Fab (antigen binding) qui possède le site anticorps et donc la capacité de lier l'antigène, et un fragment Fc (cristallisable) qui possède les sites de liaison au C1 du complément ou à des récepteurs leucocytaires ($RFc\gamma$, $RFc\epsilon$).

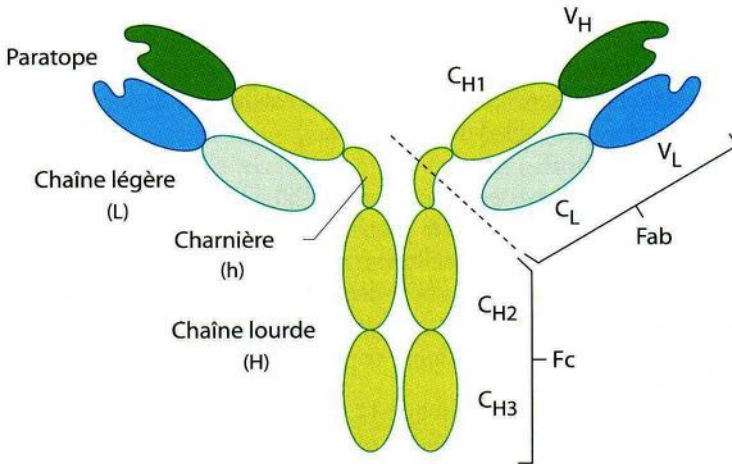
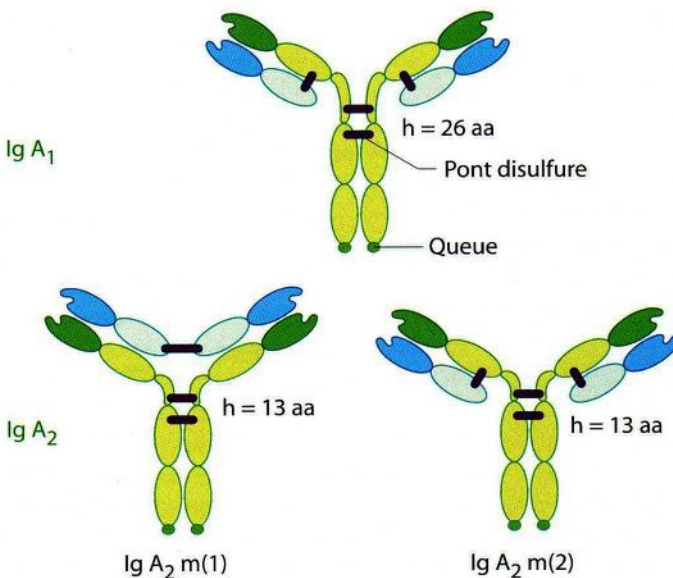


Figure 2.14 b : les différents monomères d'IgA humaine. Les IgA sont réparties en deux sous-classes IgA_1 et IgA_2 . La sous-classe IgA_2 présente deux formes allotypiques, $IgA_2m(1)$ et $IgA_2m(2)$.



L'allotype IgA2m1, majoritaire chez les Caucasiens, se caractérise par l'absence de ponts disulfure entre les chaînes lourdes et légères, et la présence d'un pont disulfure liant les chaînes légères entre elles. Ainsi, cet allotype représente un cas unique d'immunoglobuline où chaînes lourdes et légères ne sont pas liées par des liaisons covalentes.

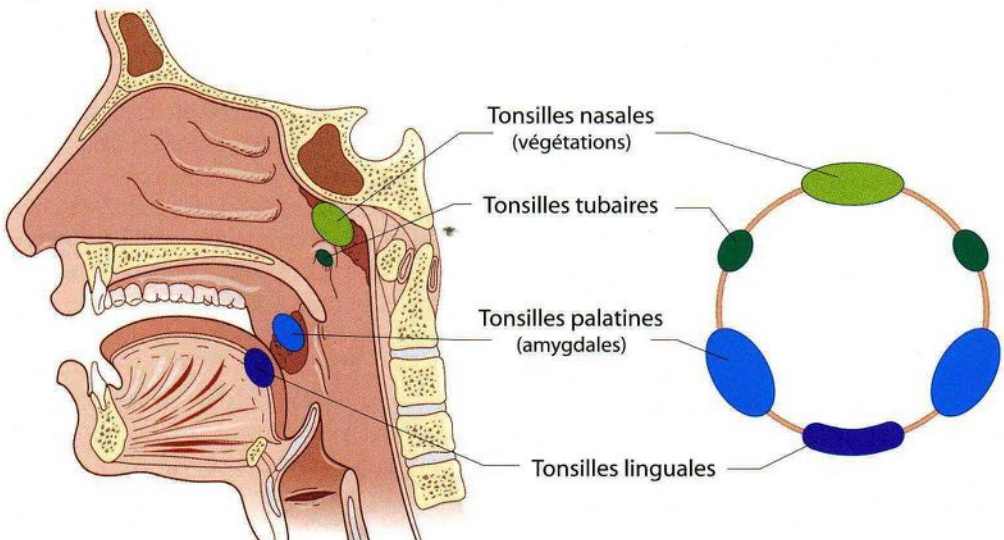
La chaîne J est une protéine de 15 kDa composée de 137 acides aminés. Elle possède deux cystéines permettant la formation de ponts disulfure avec les domaines constants des chaînes lourdes d'IgA ou d'IgM et six cystéines formant trois ponts disulfure intracaténaux. Si la chaîne J n'est pas responsable de la polymérisation des IgA qui ne requiert que la présence des cystéines du peptide queue, elle pourrait cependant la moduler. En conditions normales, la chaîne J est synthétisée par les plasmocytes et liée aux polymères. C'est par la chaîne J que le dimère d'IgA se fixe sur le récepteur aux Ig polymérisées (RpIg) situé sur les cellules acineuses et canalaux. La chaîne J est donc nécessaire à la transcytose (§ Mode de production des IgAs/transcytose).

Le composant sécrétoire est une glycoprotéine d'environ 80 kDa constituée de 5 domaines stabilisés par des ponts disulfure intracaténaux. Cette protéine est constituée par la partie extracellulaire du RpIg, elle est liée à l'IgA par un pont disulfure établi entre son domaine D5 et le CH2 de l'IgA (Figure 2.13). Le complexe pIgA/J/CS est libéré dans la salive par clivage de l'ancrage membranaire du RpIg (§ Mode de production des IgAs/transcytose).

Mode de production des IgAs

Les immunoglobulines sécrétoires sont produites en réponse à une stimulation du système immunitaire muqueux. Les organes lymphoïdes muqueux qui répondent aux antigènes buccaux sont l'anneau de Waldeyer et les amas lymphoïdes associés au tube digestif, notamment les plaques de Peyer. L'anneau de Waldeyer comprend un ensemble d'amas lymphoïdes protégeant le carrefour aéro-digestif. Il est constitué par les tonsilles linguales situées en arrière du V lingual, les tonsilles palatines

Figure 2.15 : anneau de Waldeyer.

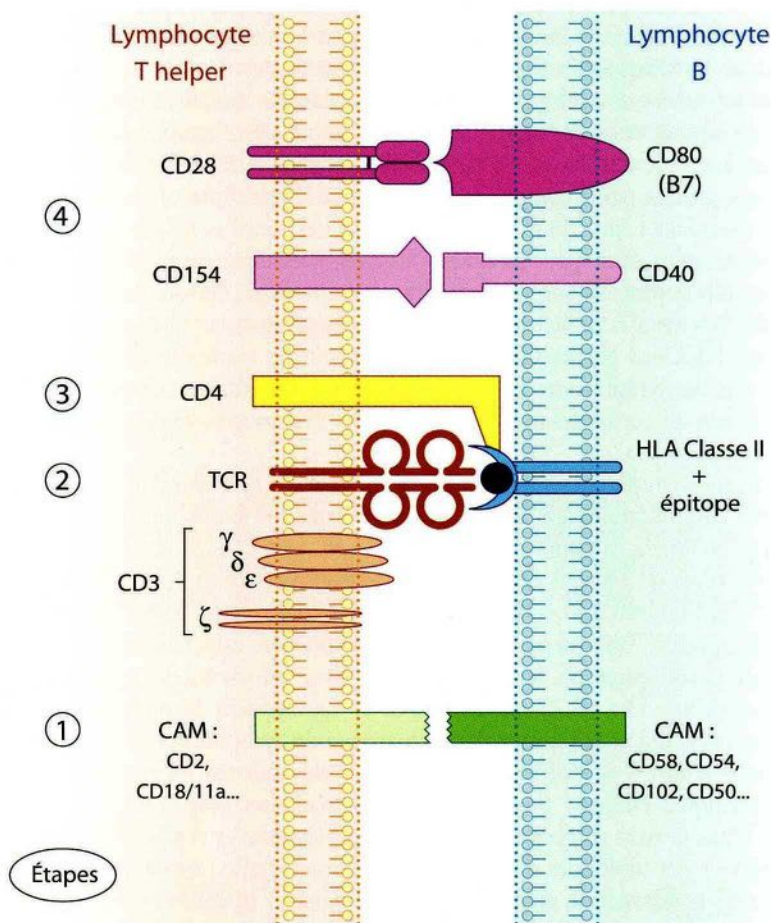


(amygdales), les tonsilles nasales (végétations) et les amas lymphoïdes associés à la trompe d'Eustache (Figure 2.15). Les plaques de Peyer sont des amas lymphoïdes principalement situés dans l'iléon terminal. Toutes ces formations lymphoïdes sont constituées d'un épithélium mono ou pluristratifié qui recouvre la zone lymphoïde sous-jacente et sont drainées par des vaisseaux lymphatiques efférents. La zone lymphoïde est organisée en follicules entourés d'une zone parafolliculaire. Les follicules contiennent majoritairement des lymphocytes B alors que les lymphocytes T et les cellules présentatrices d'antigène (CPA) sont situés dans la zone parafolliculaire. L'épithélium de recouvrement permet le transfert des antigènes de la lumière du tube digestif ou de la cavité oropharyngée vers la zone lymphoïde. Dans les plaques de Peyer, ce transfert est assuré par des cellules appelées « cellules M » (*microfolds* ou *membrane cells*) qui sont spécialisées dans la capture et le transfert de macromolécules, de micro-organismes et de petites particules de la lumière intestinale vers la zone folliculaire. Les cellules M permettent le transfert des antigènes sans altération majeure de leur structure, car ce transfert s'effectue sans passage par le compartiment lysosomal. Des cellules analogues aux cellules M sont également décrites dans l'épithélium de recouvrement des tonsilles palatines.

Les antigènes sont capturés par les cellules M ou leurs analogues et transférés jusqu'aux follicules lymphoïdes où, d'une part, ils stimulent les lymphocytes B et, d'autre part, ils sont endocytés par les CPA qui les dégradent et présentent des peptides antigéniques aux lymphocytes T. La stimulation des lymphocytes T CD4⁺ par les CPA permet d'obtenir des clones de lymphocytes T helper (Th) qui coopèrent avec les lymphocytes B qui ont reconnu l'antigène. La coopération Th/B se fait par un contact cellulaire direct restreint à l'antigène et par l'intermédiaire de cytokines sécrétées par les Th (Figure 2.16).

Dans les organes lymphoïdes muqueux, la coopération Th/B entraîne la prolifération des lymphocytes B, leur commutation vers IgA et leur transformation blastique. En règle générale, et quel que soit l'isotype concerné, la commutation de classe est sous la dépendance des cytokines sécrétées par les Th. Deux types de Th sont classiquement décrits en fonction des cytokines qu'ils produisent : les Th1 et les Th2 (Tableau 2.8). Dans le cadre de l'immunité muqueuse, on décrit une troisième catégorie de Th, appelée Th3, qui sécrète du TGF β de manière caractéristique. Le TGF β est un puissant activateur de la commutation vers IgA. Dans les sites inducteurs, les coopérations Th/B font intervenir des cytokines Th1 (IL-2) et Th3 (TGF β) qui activent la prolifération des lymphocytes, la commutation vers IgA et la transformation blastique des lymphocytes B commutés (Figure 2.17). Les lymphoblastes B IgA⁺ et les lymphocytes Th stimulés quittent les organes lymphoïdes par les vaisseaux lymphatiques efférents puis rejoignent la circulation sanguine qui les conduit vers les sites sécréteurs. Dans le tissu conjonctif périglandulaire, les cellules endothéliales des veinules post-capillaires expriment des molécules d'adhérence qui permettent le recrutement des leucocytes. Certaines molécules sont retrouvées de manière ubiquitaire dans les mécanismes de diapédèse, alors que d'autres permettent un adressage spécialisé (Figure 2.18). Ainsi, l'endothélium des veinules post-capillaires associées aux sites sécréteurs exprime les molécules communes de la diapédèse et la molécule MAdCAM-1 (*Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1*) qui lie l'intégrine $\alpha 4 \beta 7$ (LPAM-1 ou *mucosal homing receptor*) fortement exprimée par les lymphoblastes B IgA⁺ stimulés dans les plaques de Peyer. L'expression constitutive de MAdCAM-1 permet donc un recrutement sélectif des cellules stimulées dans le MALT. Après diapédèse, les lymphoblastes B IgA⁺ vont se différencier en plasmocytes dans le conjonctif qui entoure les glandes salivaires. La différenciation plasmocytaire et la sécrétion d'IgA sont activées par des cytokines sécrétées par les Th2 : l'IL-5 et l'IL-6 (Figure 2.17). Les IgA sont sécrétées dans le conjonctif sous forme de dimères d'IgA associés à une pièce J (IgA₂J). Par leur pièce J, ces molécules vont se fixer sur un récepteur aux Ig polymérisées (RpIg) exprimé par

Figure 2.16 : interactions moléculaires dans la coopération Thelper/B. La coopération entre lymphocytes T helper (Th) et lymphocytes B se déroule en plusieurs étapes successives. L'étape 1 fait intervenir des interactions non spécifiques entre molécules d'adhésion cellulaires (CAM). L'étape 2 met en jeu une interaction spécifique entre le récepteur du lymphocyte Th (TCR) et l'épitope présenté par une molécule HLA de classe II. Cette étape est stabilisée par l'interaction du CD4 avec la molécule HLA de classe II (étape 3) et la transduction du signal reçu par le TCR est assurée par le CD3. L'étape 4 fait intervenir des co-récepteurs (CD154, CD80) dont l'expression cellulaire est activée par les interactions précédentes.



les cellules acineuses et les cellules des canaux intercalaires. La liaison $[IgA]_2/RpIg$ induit l'internalisation du complexe dans une vacuole d'endocytose. L'interaction initiale entre le domaine extracellulaire D1 du récepteur et la pièce J permet la formation ultérieure d'une liaison covalente $IgA/RpIg$ par formation d'un pont disulfure entre le domaine extracellulaire D5 du récepteur et le CH2 de l'IgA. Le complexe $[IgA]_2/RpIg$ est transféré vers le pôle luminal de la cellule, le clivage du domaine extracellulaire du récepteur libère l'IgAs dans la lumière de l'acinus ou du canal et les IgAs gagnent la cavité buccale par les canaux excréteurs des glandes salivaires (Figure 2.19). Le composant sécrétoire (CS), ajouté au dimère d'IgA lors de la transcytose est donc constitué par les 5 domaines extracellulaires du $RpIg$ et l'IgAs est un complexe moléculaire qui peut s'écrire $(IgA)_2/J/CS$.

Tableau 2.8 : caractérisation des populations Th1 et Th2.

Th1	Th 2
IL-2	IL-4
IFN γ	IL-5
	IL-6
	IL-10
	IL-13

Figure 2.17 : les différentes étapes de stimulation des lymphocytes B pour la production d'IgA sécrétoires. Dans les organes lymphoïdes secondaires, la coopération Th/B se fait par un contact cellulaire direct et par des cytokines (IL2, TGF β) sécrétées par différentes sous-populations de Th (Th1, Th3). Cette coopération conduit à l'apparition de clones de lymphoblastes B IgA⁺ qui vont migrer vers les sites sécréteurs. Dans le tissu conjonctif des sites sécréteurs, les interleukines sécrétées par les Th2 (IL-5, IL-10 et IL-6) stimulent la différenciation des lymphoblastes en plasmocytes qui sécrètent des dimères d'IgA (IgA₂).

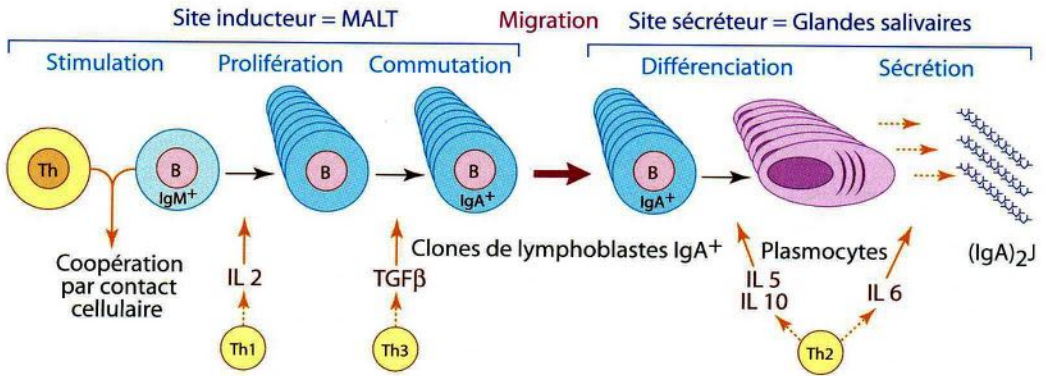


Figure 2.18 : quelques mécanismes moléculaires impliqués dans le homing des lymphocytes B. Le homing des lymphocytes B nécessite des interactions séquentielles avec les cellules endothéliales. Ces interactions sont de type lectine/sucre ou intégrine (LFA-1, LPAM-1)/molécule de la superfamille des immunoglobulines (ICAM, MadCAM-1).

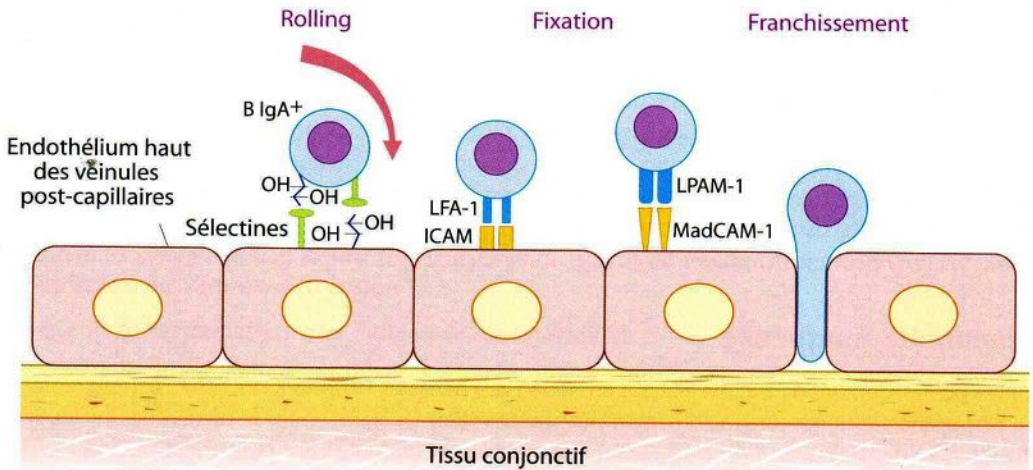
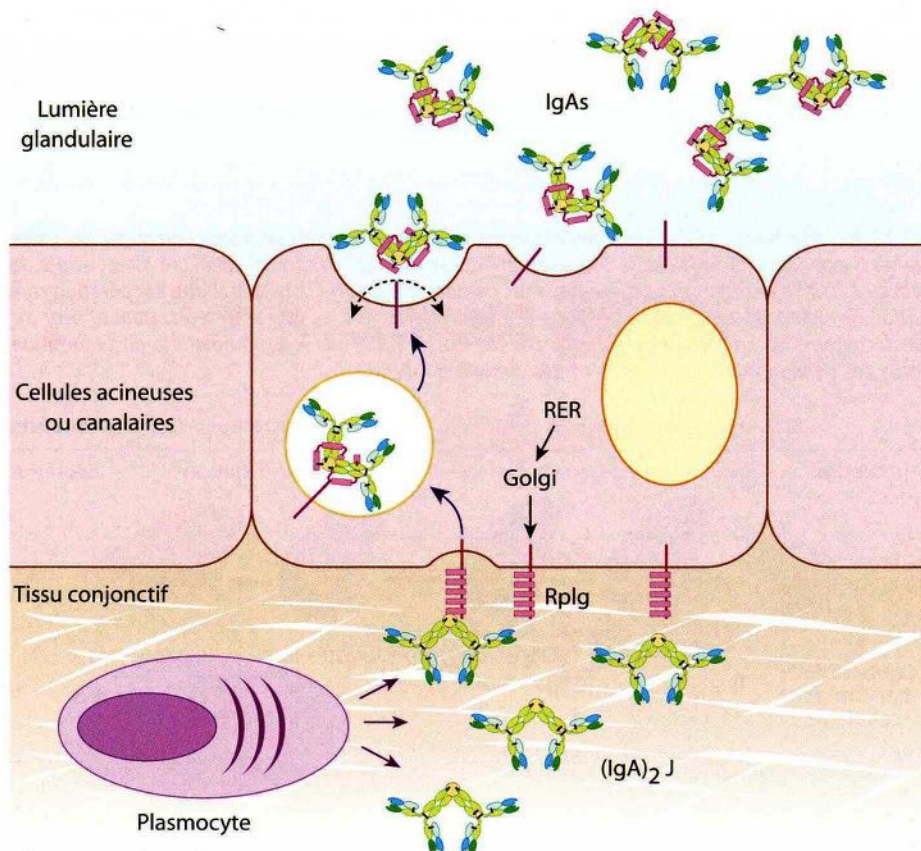


Figure 2.19 : transcytose des IgA.



Fonctions effectrices des IgA

Les IgA agissent en neutralisant les antigènes et en facilitant leur élimination. Les IgA présentent au minimum quatre sites anticorps, elles ont donc un fort pouvoir d'agrégation. Lorsqu'elles se fixent sur des antigènes de surface des micro-organismes, les IgA agrègent ces micro-organismes en gros amas qui se fixent alors moins bien sur les tissus et sont plus facilement éliminés par la chasse salivaire. Le pouvoir d'agrégation des IgA est donc un facteur déterminant de l'action antibactérienne de la salive. De plus, les IgA dirigées contre les adhésines bactériennes vont diminuer les capacités d'adhésion des bactéries sur les tissus, notamment sur la surface des dents.

Enfin, les IgA peuvent neutraliser les toxines microbiennes par simple liaison antigène-anticorps.

L'immunité muqueuse

En cas de déséquilibre de l'écosystème, d'effraction des barrières périphériques ou de colonisation par un pathogène, des micro-organismes peuvent pénétrer dans les tissus. Dans la cavité buccale, les principales voies de pénétration sont une effraction muqueuse, une infection pulpaire par lésion carieuse et une infection parodontale par le sillon gingivo-dentaire (Figure 2.11). La pénétration de micro-

organismes dans les tissus va déclencher une réponse inflammatoire locale immédiate et une réponse immunitaire spécifique dans les organes lymphoïdes secondaires. Les effecteurs produits lors de la réponse immunitaire spécifique rejoignent le site enflammé et contribuent à circonscrire l'infection et à éliminer les micro-organismes. Dans ce chapitre, nous décrivons les facteurs immunitaires innés (non spécifiques) et spécifiques qui participent à l'élimination des bactéries et des virus.

La barrière épithéliale

Les cellules épithéliales muqueuses jouent un rôle de barrière entre le milieu externe et les tissus internes. Sur sa face externe, l'épithélium héberge une flore commensale qui est tolérée par l'organisme. La desquamation régulière des couches superficielles assure l'élimination mécanique des bactéries fixées et, de ce fait, contrôle la prolifération de la flore. Par ailleurs, ce tissu sera le premier à signaler la pénétration de micro-organismes et à répondre à l'invasion en produisant des défensines et des facteurs activateurs de l'inflammation. Les cellules épithéliales reconnaissent les motifs microbiens par l'expression de récepteurs membranaires, les *Toll-Like Receptors* (TLR), et de molécules cytoplasmiques, les protéines Nod (§ ci-dessous). La polarisation de l'expression des TLR du côté basal de l'épithélium explique, au moins en partie, que le revêtement épithélial puisse tolérer la flore commensale périphérique présente en surface, et répondre à la pénétration de micro-organismes.

À l'exception de l'épithélium de jonction, les épithelia buccaux expriment les β -défensines HBD-1, -2 et -3. HBD-1 est exprimée de manière constitutive, alors que l'expression d'HBD-2 et HBD-3 est induite par des facteurs comme le LPS ou des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1 β). Ces peptides ont une action antibactérienne et antifongique directe et un rôle de signalisation intercellulaire (§ Défensines).

En plus des kératinocytes, les épithelia des muqueuses buccales possèdent des cellules de l'immunité comme les lymphocytes T $\gamma\delta$ intra-épithéliaux et les cellules de Langerhans.

Les lymphocytes T $\gamma\delta$ intra-épithéliaux de la peau et des muqueuses sont CD4-, CD8- (double négatifs) et possèdent un TCR $\gamma\delta$ de diversité réduite. Ils reconnaissent donc des motifs antigéniques définis (protéines de stress (hsp), séquences apparentées aux molécules HLA de classe I, motifs microbiens...), non présentés par des molécules HLA. La stimulation des lymphocytes T $\gamma\delta$ intra-épithéliaux ne requiert donc pas la présence de cellules présentatrices d'antigènes. Plusieurs fonctions sont attribuées aux lymphocytes T $\gamma\delta$ intra-épithéliaux stimulés : (1) une fonction régulatrice par production de chimiokines et de cytokines inflammatoires, (2) une fonction effectrice cytolytique sur des cellules infectées par des pathogènes et (3) une fonction activatrice de la réparation tissulaire par production de facteurs de prolifération des kératinocytes (KGF = *Keratinocyte Growth Factors*).

Les cellules de Langerhans sont capables de reconnaître les micro-organismes et de les endocyter (§ Cellules présentant l'antigène). Cette endocytose entraîne une activation cellulaire, la cellule quitte l'épithélium, passe dans le conjonctif, rejoint les vaisseaux lymphatiques et gagne les ganglions lymphatiques où elle sert de CPA et active les lymphocytes T.

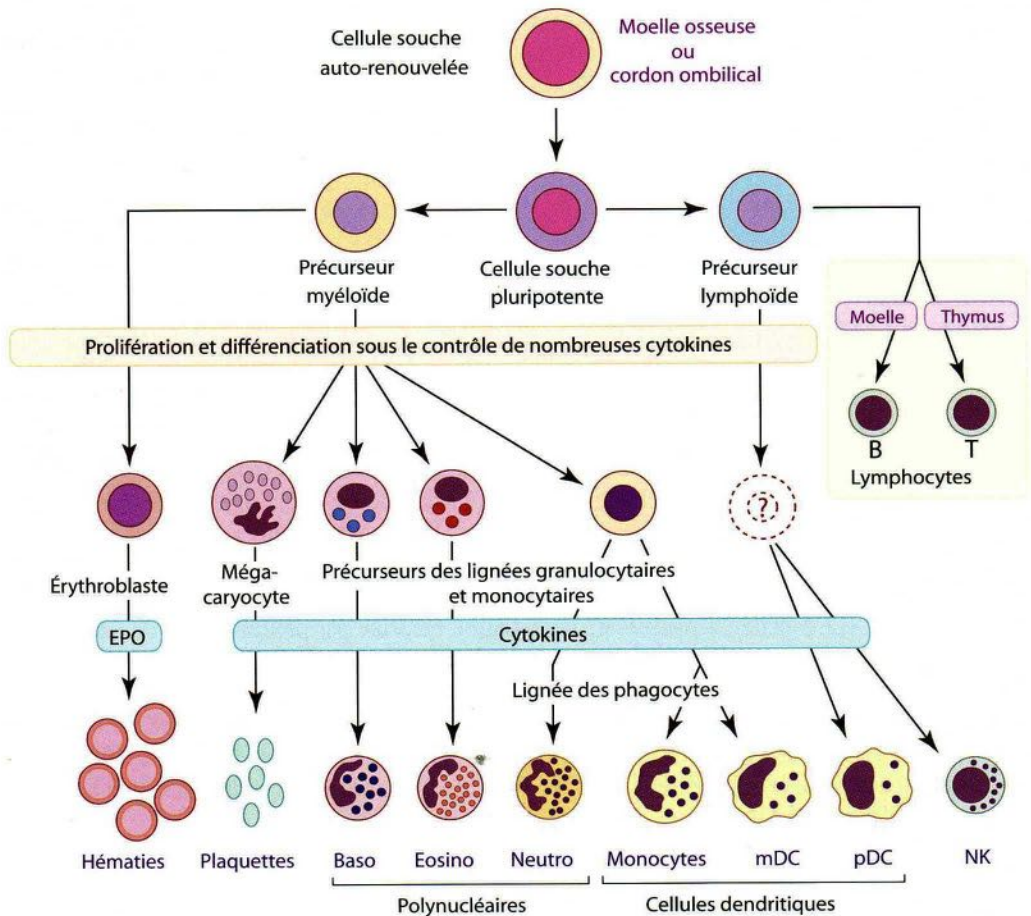
Les cellules de l'immunité innée

Origine et différenciation des lignées leucocytaires

Les cellules de l'immunité appartiennent aux lignées leucocytaires sanguines et à leurs analogues tissulaires. Ces cellules sont issues d'un précurseur hématopoïétique commun. Chaque cellule souche médullaire pluripotente s'oriente vers la lignée lymphoïde ou la lignée myéloïde. Il existe un précurseur lymphoïde commun aux lymphocytes T, lymphocytes B, cellules NK et pDC. Le précurseur myéloïde

est à l'origine des lignées érythrocytaire, mégacaryocytaire, granulocytaire et monocytaire (Figure 2.20). Après leur maturation médullaire, les cellules de l'immunité non spécifique gagnent le sang et, pour certaines d'entre elles, les tissus périphériques où elles constituent un pool de cellules fonctionnelles qui ne prolifèrent plus, mais sont activables par divers stimuli. Ainsi, les tissus conjonctifs cutanés et muqueux contiennent de façon constitutive des mastocytes (analogues tissulaires des polynucléaires basophiles), des macrophages et des cellules dendritiques qui sont susceptibles de répondre à une altération tissulaire locale. La réponse cellulaire locale se traduit par la production de différentes molécules inflammatoires qui déclenchent la phase vasculaire et le recrutement des cellules circulantes.

Figure 2.20 : maturation des cellules sanguines. EPO = érythropoïétine, mDC = myéloïd DC (cellule dendritique d'origine myéloïde), pDC= plasmacytoïd DC (cellule dendritique d'origine lymphoïde), NK = lymphocyte Natural Killer



Les cellules de l'immunité spécifique subissent une étape de maturation dans les organes lymphoïdes primaires, le thymus pour les lymphocytes T et la moelle osseuse pour les lymphocytes B. Au cours de cette maturation, les lymphocytes acquièrent un récepteur spécifique pour l'antigène (TCR pour les lymphocytes T et BCR pour les lymphocytes B), et sont éduqués à tolérer le « soi » et à répondre

à toute altération du «soi» ou toute pénétration d'un élément étranger au «soi». Le «soi» immunitaire se définit pour chaque individu par l'expression des molécules HLA de classe I et de classe II. Après maturation, les lymphocytes T et B gagnent les organes lymphoïdes secondaires par voie sanguine. C'est dans les organes lymphoïdes secondaires que se développe la réponse immunitaire spécifique qui permet d'obtenir des anticorps et des lymphocytes T cytotoxiques.

Reconnaissance des micro-organismes par les cellules de l'immunité non spécifique

Les micro-organismes sont reconnus par les cellules de l'hôte parce qu'ils expriment à leur surface des motifs moléculaires propres regroupés sous le terme de «*Pathogen-Associated Molecular Patterns*» (PAMP). Les PAMP sont des structures microbiennes comme le LPS des bactéries Gram-, l'acide lipotéichoïque de la paroi des bactéries Gram+, le peptidoglycane, la flagelline, les motifs CpG de l'ADN bactérien, les lipoprotéines bactériennes, les ARN viraux... Ces motifs sont exprimés aussi bien par les micro-organismes non pathogènes que par les pathogènes, ils ne constituent donc pas un facteur de pathogénicité. Les PAMP sont reconnus par des récepteurs dénommés «*Pathogen-Recognition Receptors*» (PRR), exprimés par différents types cellulaires (cellules dendritiques, monocytes, macrophages, cellules de Langerhans, polynucléaires neutrophiles, cellules épithéliales et endothéliales...). Les récepteurs les mieux caractérisés sont les récepteurs de type Toll (*Toll-Like Receptors* = TLR), les protéines intracellulaires Nod (*Nucleotid-binding Oligomerization Domain*) et les lectines de type-C (*C-type Lectin-like Receptor* = CLR).

Les TLR sont des molécules transmembranaires qui présentent un domaine extracellulaire constitué de séquences répétées riches en leucine, et un domaine intracytoplasmique dénommé TIR (*Toll/IL-1 Receptor Domain*), car il présente une grande analogie de structure avec celui du récepteur à l'IL-1. Chez l'Homme, 10 TLR (TLR1 à TLR10) sont identifiés, ils reconnaissent des motifs bactériens, viraux ou fongiques (Figure 2.21). Les TLR-1, -2, -4, -5, -6, et -10 sont exprimés sur la membrane plasmique, alors que les TLR-3, -7, -8 et -9 sont localisés dans le cytoplasme. Cette distribution dans différents compartiments cellulaires permet aux cellules de reconnaître des PAMP présents dans le milieu extracellulaire ou des PAMP exprimés par des micro-organismes infectant les cellules, comme les virus. Différents TLR sont exprimés sur les monocytes, les cellules dendritiques, les neutrophiles, les mastocytes, les cellules épithéliales ou endothéliales (Tableau 2.9). La diversité des TLR exprimés par une cellule définit la diversité des motifs microbiens qu'elle est susceptible de reconnaître. L'expression des TLR est modulée par l'invasion microbienne et les cytokines. La transduction du signal induit par un TLR conduit à une activation cellulaire qui se traduit par une maturation et une production de cytokines pro-inflammatoires.

Tableau 2.9 : répartition cellulaire des TLR.

	Distribution cellulaire	Localisation sub-cellulaire
TLR1	Monocyte, mDCimm, neutrophiles, mastocytes, éosinophiles	Membrane plasmique
TLR2	Monocytes, mDCimm, neutrophiles, mastocytes, cellules épithéliales	Membrane plasmique
TLR3	mDCmatures	Vésicules cytoplasmiques
TLR4	Monocytes, mDCimm, neutrophiles, mastocytes, éosinophiles, cellules épithéliales	Membrane plasmique
TLR5	Monocytes, mDCimm, neutrophiles, cellules épithéliales	Membrane plasmique
TLR6	Monocytes, pDC, neutrophiles, mastocytes	Membrane plasmique
TLR7	pDC, neutrophiles, éosinophiles	Vésicules cytoplasmiques
TLR8	Monocytes, mDCimm, neutrophiles, mastocytes	Vésicules cytoplasmiques
TLR9	pDC, neutrophiles, éosinophiles	Vésicules cytoplasmiques
TLR10	Neutrophiles, éosinophiles	Membrane plasmique

Les CLR sont des lectines qui possèdent un domaine externe de reconnaissance des sucres qui dépend du calcium. Il existe plusieurs familles de lectines membranaires qui diffèrent par leur structure moléculaire, leur expression cellulaire et leurs fonctions. Certaines jouent un rôle dans l'homéostasie tissulaire par la reconnaissance de motifs endogènes, d'autres - comme les sélectines - interviennent dans la diapédèse leucocytaire, et d'autres reconnaissent des motifs microbiens et activent la phagocytose des micro-organismes. Différents types de lectines membranaires activant la phagocytose sont exprimés par les cellules présentatrices d'antigènes (Tableau 2.10). Ces CLR reconnaissent des sucres exprimés par différents micro-organismes (bactéries, levures, virus ou parasites). Leur première fonction effectrice est d'activer la phagocytose du micro-organisme reconnu, mais ils peuvent également posséder une fonction synergique ou antagoniste de l'activation induite par les TLR, modulant ainsi l'activation des CPA et le déclenchement d'une immunité spécifique.

Tableau 2.10 : différentes lectines membranaires impliquées dans la phagocytose des antigènes.

Famille de CLR*	Nom	Expression cellulaire	Ligand
Groupe II : type-2 receptors	DC-SIGN	mDC	Mannan, Lewis ^x
	BDCA-2	pDC	indéterminé
Groupe V : NK receptors	Dectine-1	Monocytes, macrophages, mDC, LC, neutrophiles	
Groupe VI : <i>Macrophage Mannose Receptors family</i>	Récepteur du mannose (MR)	Monocytes, macrophages, mDC, LC	Mannose, fucose, N-acétylglucosamine
	DEC-205	Cellules endothéliales	indéterminé

D'après Linehan et al. 2000, Cambi and Figdor 2003 ; Herre et al. 2004.

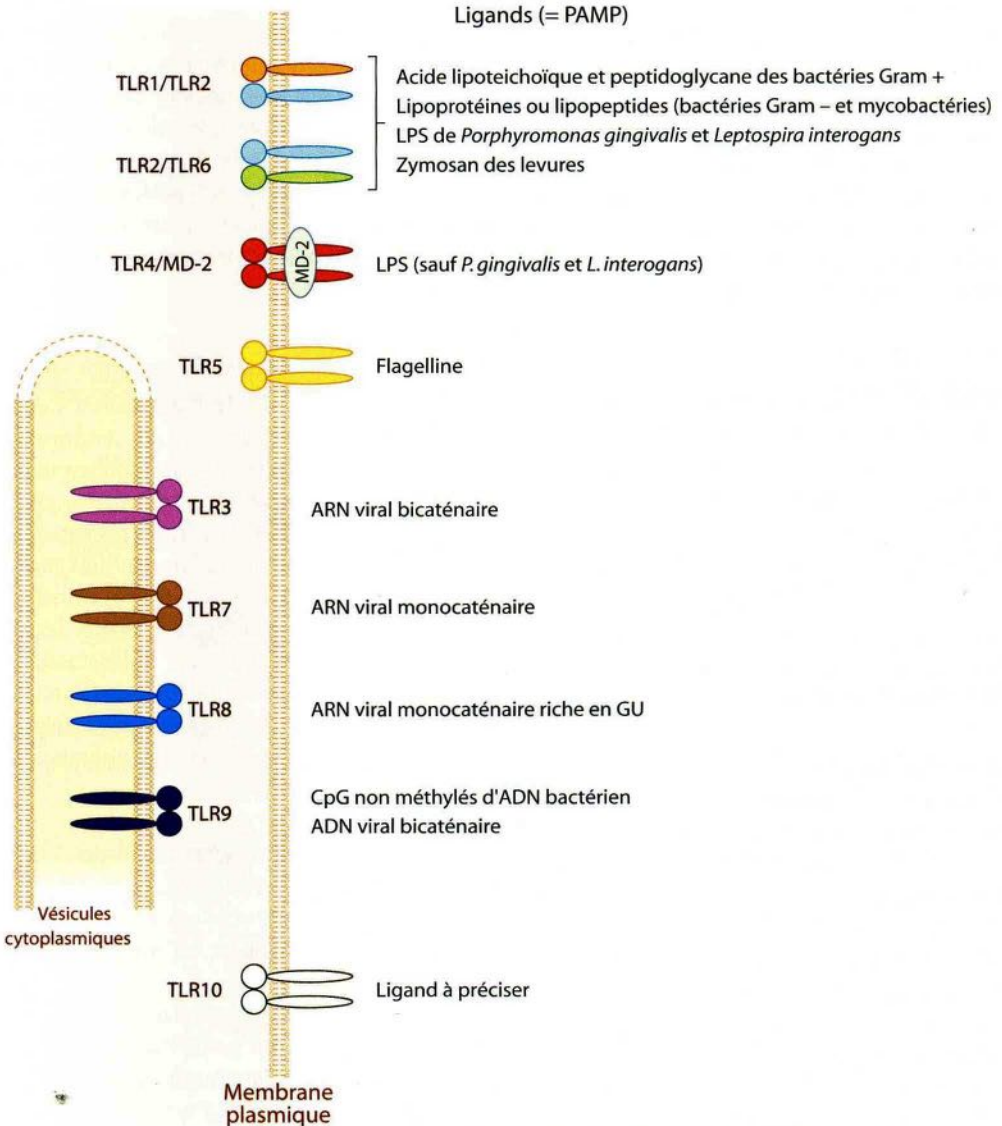
* Selon la classification : *a database of human proteins containing C-type lectin-like domains* (<http://cld.glycob.ox.ac.uk/cld/mammals/humandata.html>)

Les protéines Nod sont des protéines cytosoliques qui détectent les bactéries intracellulaires. Nod1 reconnaît deux motifs contenant l'acide diaminopimélic caractéristique du peptidoglycane des bactéries à Gram négatif. Nod2 reconnaît un motif élémentaire des peptidoglycanes présent chez les bactéries à Gram positif et négatif constitué d'un dipeptide L-Ala/D-Glu lié à l'acide N-acétylmuramique (= muremyldipeptide). La molécule Nod1 est exprimée par les cellules épithéliales des muqueuses, elle permettrait la détection de bactéries Gram- envahissant le revêtement muqueux lorsque celles-ci pénètrent l'épithélium. La molécule Nod2 est principalement exprimée par les cellules de la lignée myéloïde, mais également par les cellules épithéliales des muqueuses, permettant la détection de bactéries Gram+ et Gram- par ces cellules. Le rôle des protéines Nod1 et Nod2 dans le déclenchement d'un signal inflammatoire d'alerte par les cellules épithéliales a été particulièrement bien étudié au niveau de la muqueuse intestinale qui tolère la présence d'une flore riche et diversifiée dans la lumière intestinale, tout en étant capable de détecter toute pénétration tissulaire de ces bactéries.

Les mastocytes

Les mastocytes sont des cellules granulaires présentes dans les tissus conjonctifs, fonctionnellement équivalentes aux polynucléaires basophiles du sang. Les mastocytes répondent à l'invasion microbienne (bactéries, levures essentiellement) par une dégranulation qui libère des médiateurs préformés comme l'histamine, mais aussi des protéases et de petites quantités de TNF α . Les mastocytes agissent lors de la phase inflammatoire précoce en induisant une augmentation de la perméabilité vasculaire et en stimulant l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales, ce qui favorise le recrutement de leucocytes, notamment des polynucléaires neutrophiles. L'activation des

Figure 2.21 : Toll-Like Receptors chez l'Homme.



-  Modélisation d'un monomère du TLR
-  Domaine susceptible de recevoir un ligand
-  Domaine chargé de déclencher le signal intracellulaire

Les TLR sont fonctionnels sous forme d'homo ou d'hétérodimères.

Ils sont exprimés sur les polynucléaires, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Paneth de l'intestin...

Ils se lient à certains produits microbiens : les PAMP (*Pathogen Associated Molecular Patterns*).

mastocytes se traduit également par la néosynthèse et la sécrétion différée de $\text{TNF}\alpha$, d'IL1, d'IL-6 et de chimiokines.

L'activation des mastocytes est obtenue par la stimulation de différents récepteurs de surface. Les anaphylatoxines C3a et C5a produites lors de l'activation du complément stimulent la dégranulation et la néosynthèse des médiateurs. L'expression de TLR par les mastocytes est décrite sans que le rôle fonctionnel de ces différents récepteurs ne soit encore clairement établi chez l'homme.

Dans le cadre des hypersensibilités de type I (réactions allergiques), les individus sensibilisés possèdent des IgE dirigées contre un allergène donné qui se fixent sur les récepteurs au fragment Fc des IgE (RFcE) exprimés par la membrane des mastocytes. Lorsque l'allergène est réintroduit dans l'organisme, le pontage des IgE de surface est responsable de la dégranulation des mastocytes et, de ce fait, de la réaction inflammatoire immédiatement déclenchée.

Les phagocytes

La phagocytose est un mécanisme clé qui permet de maintenir l'homéostasie tissulaire. Elle contribue à éliminer les micro-organismes mais aussi les cellules altérées ou mortes de l'organisme. Certains phagocytes sont présents de manière constitutive dans les tissus (macrophages, cellules dendritiques), alors que d'autres sont recrutés en cas d'inflammation (polynucléaires neutrophiles). Différentes catégories de phagocytes peuvent être identifiées selon leurs fonctions effectrices. Ainsi, les cellules dendritiques sont spécialisées dans la présentation d'antigènes aux lymphocytes T, les polynucléaires neutrophiles lysent les micro-organismes ingérés et libèrent des médiateurs inflammatoires mais ne présentent pas l'antigène, et les monocytes/macrophages participent à la fois à la lyse initiale des micro-organismes, libèrent des médiateurs de l'inflammation et sont capables de présenter les antigènes aux lymphocytes T. La fonction de « cellule présentant l'antigène » est indispensable au déclenchement de l'immunité spécifique et sera traitée dans le chapitre « stimulation de l'immunité spécifique ». La fonction phagocytaire décrite dans ce paragraphe est celle permettant la dégradation intracellulaire des micro-organismes, elle est principalement assurée par les polynucléaires neutrophiles.

Les polynucléaires neutrophiles représentent la fraction majoritaire des leucocytes circulants. Ce sont des cellules différenciées incapables de proliférer. Ce sont les premières cellules recrutées sur un site infecté en phase inflammatoire aiguë. Les polynucléaires neutrophiles jouent un rôle déterminant dans la réponse antibactérienne ou antifongique par leur aptitude à dégrader les micro-organismes ingérés et par leur participation à la réaction inflammatoire locale.

Les polynucléaires neutrophiles expriment des molécules membranaires reconnaissant des motifs microbiens (*Peptidoglycan Recognition Protein*, Dectine-1, CD14, TLR) qui permettent une phagocytose spontanée et une activation cellulaire. De plus, les polynucléaires neutrophiles possèdent des récepteurs pour le C3b (CD35, CD11b/18[®]) et le fragment Fc des IgG (RFc γ = CD16), et la phagocytose est considérablement augmentée par l'opsonisation des micro-organismes (Figure 2.22). Une fois phagocytés, les micro-organismes seront détruits dans les phagosomes par des peptides antimicrobiens, des enzymes ou des radicaux oxygénés.

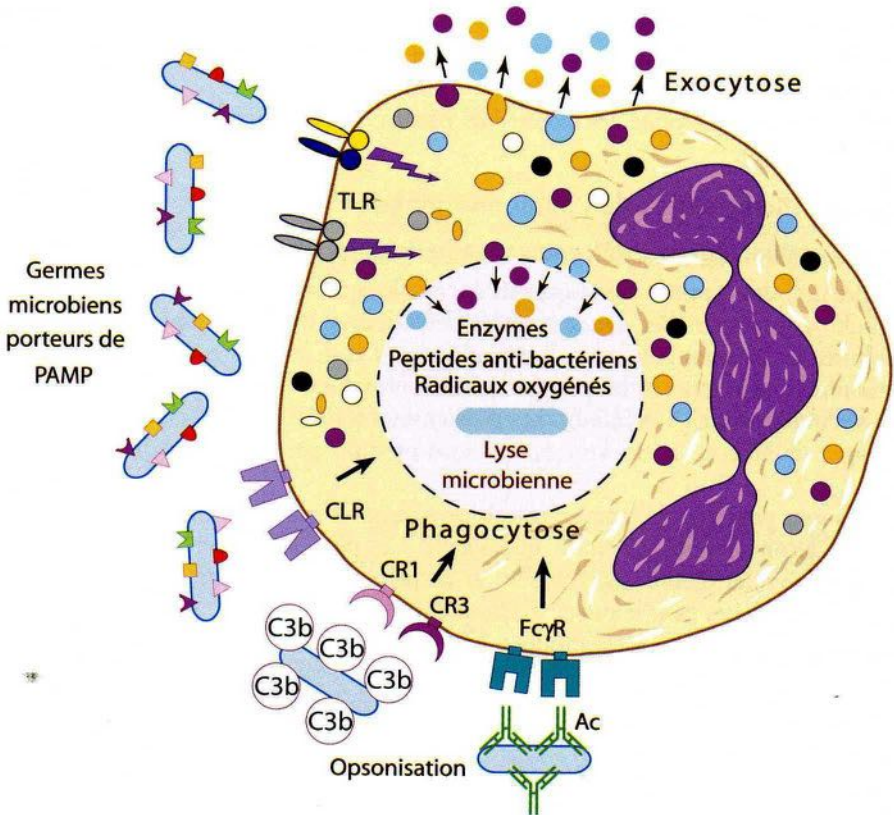
Les polynucléaires neutrophiles contiennent trois types de granules cytoplasmiques qui contribuent à la dégradation des micro-organismes grâce aux différents facteurs antimicrobiens qu'ils contiennent :

- Des granules primaires ou azurophiles, qui contiennent des α -défensines, une protéine antibactérienne (= *bactericidal/permeability-increasing protein*), des sérine-protéases microbicides (protéinase-3, cathepsine G, élastase), de la myéloperoxydase et du lysozyme.

- Des granules secondaires ou granules spécifiques, qui contiennent de la lactoferrine, une lipocaline, de la cathélicidine et du lysozyme.
- Des granules tertiaires qui contiennent de la gélatinase et du lysozyme.

L'exocytose des granules primaires est limitée. Les granules secondaires et tertiaires sont dépourvus de myéloperoxydase (peroxydase-négatifs) et diffèrent les uns des autres par leur contenu et leur degré d'exocytose. Les granules secondaires participent plus à la destruction microbienne que les granules tertiaires, mais leur exocytose est plus modérée. En plus des molécules antimicrobiennes citées ci-dessus, les granules des polynucléaires neutrophiles contiennent de nombreuses enzymes (collagénase, gélatinase, élastase, héparanase...). Par la libération du contenu de leurs granules dans la matrice extracellulaire, les polynucléaires neutrophiles participent à la dégradation tissulaire associée à l'inflammation.

Figure 2.22 : activation d'un polynucléaire neutrophile dans un environnement microbien. PAMP = Pathogen-Associated Molecular Pattern, TLR = Toll-Like Receptor, CLR = C-type Lectine Receptor, CR1, CR3 = récepteurs pour le fragment C3b du complément. FcγR = récepteur pour le fragment Fc des IgG.



Les cellules Natural Killer (NK)

Les cellules NK sont des lymphocytes qui appartiennent à la catégorie des grands lymphocytes granuleux. Ces cellules sont spontanément lytiques pour les cellules tumorales, d'où leur appellation de « Natural Killer Cells ». Les cellules NK possèdent différents récepteurs activateurs et inhibiteurs qui

leur permettent de détecter une altération de l'expression moléculaire de surface des cellules de l'organisme. C'est l'équilibre entre signaux activateurs et inhibiteurs qui maintient les cellules NK inactives ; l'activation de ces cellules étant déclenchée par une baisse des signaux inhibiteurs ou une augmentation des signaux activateurs. Trois catégories de récepteurs sont exprimées par les cellules NK : les *Killer Ig-like Receptors* (KIR) qui reconnaissent les molécules HLA de Classe I, des lectines de type-C (CLR) qui reconnaissent des sucres, et des *Natural Cytotoxicity Receptors* (NCR) dont les ligands ne sont pas encore connus. De plus, les cellules NK possèdent des récepteurs pour le fragment Fc des IgG (RFc γ = CD16), elles reconnaissent donc les cellules lorsque celles-ci sont recouvertes d'IgG (§ infra/les anticorps). Une cellule de l'organisme qui présente une expression normale de ses molécules HLA n'activera pas la cytolysse par les cellules NK car le signal sera inhibiteur. Une baisse quantitative de l'expression des molécules HLA et l'expression de molécules anormales à la surface cellulaire induiront une baisse de l'inhibition et un signal activateur, il y aura cytolysse. Les cellules NK détruisent les cellules tumorales dont l'expression moléculaire de surface est altérée, et les cellules infectées par un micro-organisme (virus, bactéries intracellulaires) qui expriment une antigénicité reconnue par des IgG (§ infra, les anticorps).

La destruction des cellules est réalisée par un mécanisme analogue à celui des lymphocytes T cytotoxiques, les granules des cellules NK contenant de la perforine et des granzymes. L'action lytique des cellules NK est activable par des cytokines.

En plus de leur action cytolytique, les cellules NK participent à la réaction locale par la sécrétion de cytokines (IFN γ , TNF).

Les effecteurs moléculaires de l'immunité innée

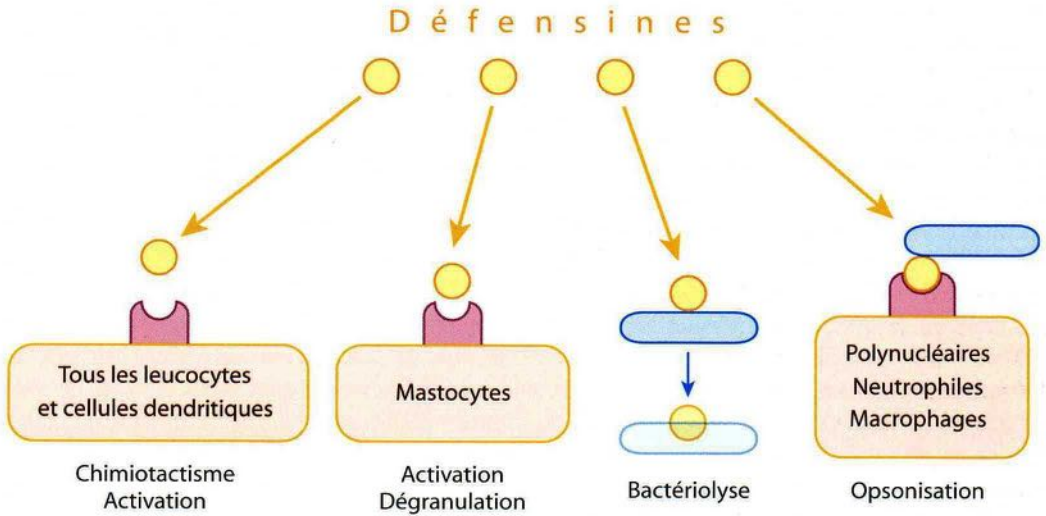
Les peptides antibactériens : défensines, cathélicidine, histatines

Les défensines sont des peptides cationiques de 2 à 6 kDa, qui possèdent 6 résidus cystéine formant 3 ponts disulfure intracaténaux. Deux types de défensines se distinguent par la position de leurs ponts disulfure, les α -défensines et les β -défensines. Les α -défensines sont des peptides de 29 à 35 acides aminés synthétisés par les polynucléaires neutrophiles (HNP-1 à HNP-4) et les cellules de Paneth de l'intestin (HD-5 et HD-6). Les β -défensines (HBD-1 à HBD-3) sont des peptides un peu plus longs, de 38 à 42 acides aminés, qui sont produits par différentes catégories de cellules épithéliales.

Les défensines sont produites de manière constitutive ou après stimulation par des cytokines inflammatoires ou la reconnaissance de motifs microbiens. Ces peptides peuvent être localisés dans des vésicules cytoplasmiques (lysosomes, granules) et participer à la dégradation des micro-organismes phagocytés, ou être libérés dans le milieu extracellulaire.

Les défensines possèdent des activités antimicrobiennes directes, en particulier antibactériennes, antifongiques et vis-à-vis de virus enveloppés. Elles participent également à la réponse inflammatoire tissulaire, car elles stimulent la dégranulation des mastocytes, augmentent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et possèdent un effet chimiotactique sur de nombreux leucocytes (Figure 2.23). Les modalités de l'action antimicrobienne des défensines ne sont pas encore totalement élucidées. Il est généralement admis qu'elles agissent en altérant l'intégrité de la membrane, par la formation de pores transmembranaires ou par un tapissage externe. Elles semblent également capables d'altérer la synthèse d'acides nucléiques ou de protéines. Certains micro-organismes sont résistants à l'action microbicide des défensines, ce qui constitue un facteur de virulence. Ainsi, les α -défensines produites par les polynucléaires neutrophiles ne sont pas bactéricides pour *P. gingivalis* et *A. actinomycetemcomitans*.

Figure 2.23 : différentes actions des défenses.



La cathélicidine humaine, LL37, est un peptide de 37 acides aminés dépourvu de cystéine qui présente une structure en hélice α . La cathélicidine est synthétisée par différents leucocytes et les kératinocytes ; elle est présente dans la salive. Les mécanismes d'action de ce peptide antibactérien ne sont pas clairement décrits. Sa cible est la membrane bactérienne, son action finale est bactériolytique et elle agit en synergie avec la défensine HBD-2.

Les histatines sont des peptides cationiques de 7 à 38 acides aminés riches en histidine. Ils sont sécrétés par les glandes parotides et sous-mandibulaires et présentent des activités antibactériennes et antifongiques.

La lactoferrine

La lactoferrine est une glycoprotéine de 80 kDa de la famille des transferrines. Elle est capable de lier deux atomes de fer (Fe^{3+}). La lactoferrine est retrouvée dans les granules des polynucléaires neutrophiles, dans le lait maternel, la salive et le fluide séminal.

Depuis de nombreuses années, l'effet antimicrobien de la lactoferrine est attribué à sa capacité de séquestrer le fer, privant ainsi les micro-organismes d'un nutriment essentiel. Cependant, il est maintenant admis que la lactoferrine exerce également une activité bactéricide indépendante du fer. De plus, elle possède une activité antivirale en inhibant la fixation du virus sur sa cellule cible, et donc l'infection cellulaire. Cette inhibition est obtenue par liaison de la lactoferrine aux protéines de l'enveloppe virale ou aux récepteurs cellulaires. La lactoferrine est capable de lier les particules du HCV, des polio et rotavirus, du HSV et peut être du HIV.

La protéolyse acide ménagée de la lactoferrine libère un peptide cationique dénommé lactoferricine. La lactoferricine humaine possède une activité antibactérienne dont les modalités sont proches de celles attribuées aux autres peptides antibactériens (§ ci-dessus).

Le lysozyme

Le lysozyme est une protéine acide présente dans la salive et toutes les sécrétions muqueuses. C'est une substance antibactérienne très répandue dans l'organisme et sécrétée par de nombreux types cellulaires. Le lysozyme est une enzyme qui dégrade le peptidoglycane de la paroi des bactéries en hydrolysant les liaisons β 1-4 liant l'acide N-acétyl Muramique à la N-acétyl Glucosamine (§ La cellule bactérienne).

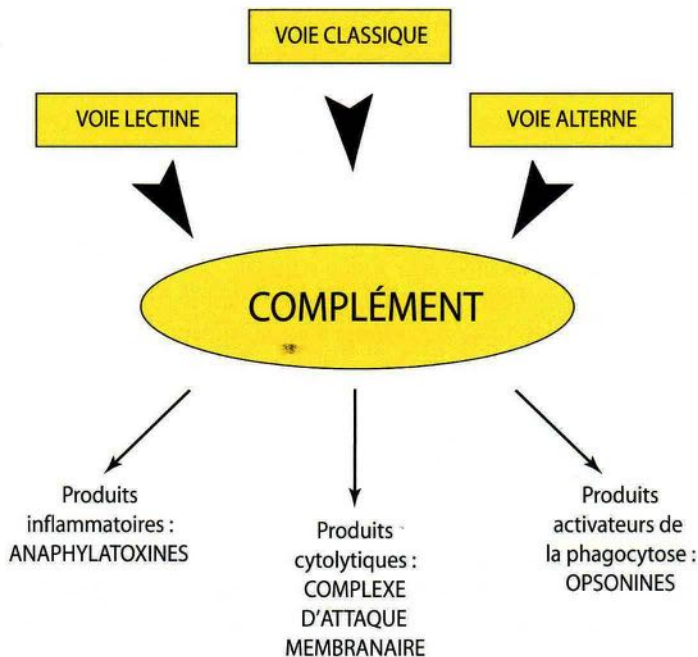
Les peroxydases

Il existe plusieurs types de peroxydases. La peroxydase salivaire est produite par les cellules acineuses des glandes salivaires et sécrétée dans la salive. La myéloperoxydase est d'origine leucocytaire, elle est présente dans les granules primaires des polynucléaires neutrophiles et catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en acide hypochloreux ($HOCl$), extrêmement toxique pour les bactéries.

Le système du complément

Le système du complément est constitué de 9 protéines (C1 à C9) dont l'activation en cascade conduit à la formation d'un complexe d'attaque membranaire constitué par la polymérisation intramembranaire d'au moins 6 unités de C9. Le complexe d'attaque membranaire perfore la membrane et entraîne la lyse de la cellule. En plus de la formation du complexe d'attaque membranaire, l'activation de la cascade complémentaire libère une opsonine (C3b) et des anaphylatoxines (C3a, C4a et C5a). Le système du complément est activé selon trois voies distinctes : la voie classique, la voie alterne et la voie des lectines (Figure 2.24).

Figure 2.24 : les voies d'activation du complément et leurs conséquences.

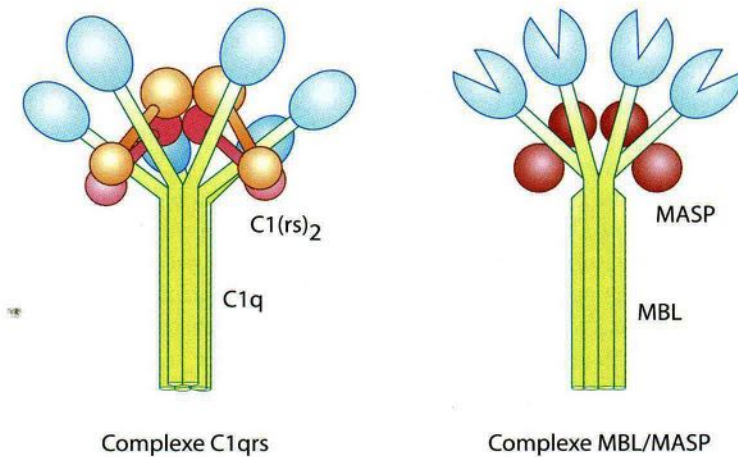


La voie classique est dite spécifique car elle est activée par un complexe antigène-anticorps. Le complexe antigène-anticorps fixe et active le complexe C1qrs qui déclenche la cascade d'activation. La voie des lectines permet l'activation des facteurs C2 et C4, indépendamment du C1. La *Mannose-Binding Lectin* (MBL) est une protéine sérique synthétisée par le foie dont le taux augmente en cas d'inflammation (protéine de la phase aiguë). La MBL appartient à la famille des collectines qui sont des lectines de type-C, c'est-à-dire des lectines qui lient les sucres de manière calcium dépendante. La MBL reconnaît de nombreux motifs microbiens dont le LPS des bactéries Gram-, l'acide lipoteichoïque des bactéries Gram+ et les polysaccharides de la surface des levures. La MBL possède une structure proche de celle du C1q. Associée à une sérine protéase (MASP = *MBL-Associated Serine Protease*), le complexe MBL/MASP se comporte de manière analogue au C1qrs et clive les facteurs C2 et C4, déclenchant la cascade d'activation qui conduit à la formation du complexe d'attaque membranaire et à la libération des anaphylatoxines (Figure 2.25). La voie des lectines se traduit donc par une activation analogue à la voie classique, mais déclenchée de manière alternative et non spécifique. Une autre lectine, la ficoline, est également capable de lier la protéine MASP et d'induire l'activation des facteurs C2 et C4. La ficoline lie les résidus saccharidiques de manière indépendante du calcium, elle possède un large spectre de reconnaissance de motifs bactériens et fongiques.

La voie alterne est une voie non spécifique qui est activée directement par différentes structures microbiennes telles que le LPS de la paroi des bactéries Gram- ou l'acide teichoïque de la paroi des bactéries Gram+. La voie alterne est une voie d'activation du C3 qui permet d'obtenir une C5 convertase différente de celle de la voie classique ou de la voie des lectines, le C3bBb (Figure 2.26).

Quelle que soit la voie, l'activation du complément conduit à la formation du complexe d'attaque membranaire, à la production d'opsonines et à la libération des anaphylatoxines (Figure 2.24).

Figure 2.25 : comparaison structurale des complexes moléculaires C1qrs et MBL/MASP.



Le complexe d'attaque membranaire est actif sur les bactéries Gram- qui possèdent une membrane externe susceptible d'être perforée. Les bactéries Gram + sont protégées par un peptidoglycane épais et ne sont pas sensibles à cette attaque. Certaines bactéries Gram-, et notamment des bactéries parodontopathiques,

ont développé des mécanismes de protection contre le complexe d'attaque membranaire. Ces facteurs de virulence agissent en altérant l'assemblage C5-C9 ou en inhibant l'insertion du C9 dans la membrane. La présence d'une capsule est également un facteur qui limite l'accès à la membrane externe.

L'opsonine C3b se fixe sur la surface bactérienne et va permettre d'amplifier la phagocytose par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles qui possèdent des récepteurs pour le C3b. Ce sont ces phagocytes qui permettent l'élimination des bactéries non susceptibles ou résistantes à l'action du complexe d'attaque membranaire (§ Phagocytes).

Les anaphylatoxines participent à l'inflammation par activation de la diapédèse leucocytaire. Cet effet chimiotactique est réalisé directement par une action sur les cellules endothéliales et indirectement en provoquant la dégranulation des mastocytes et la libération d'histamine.

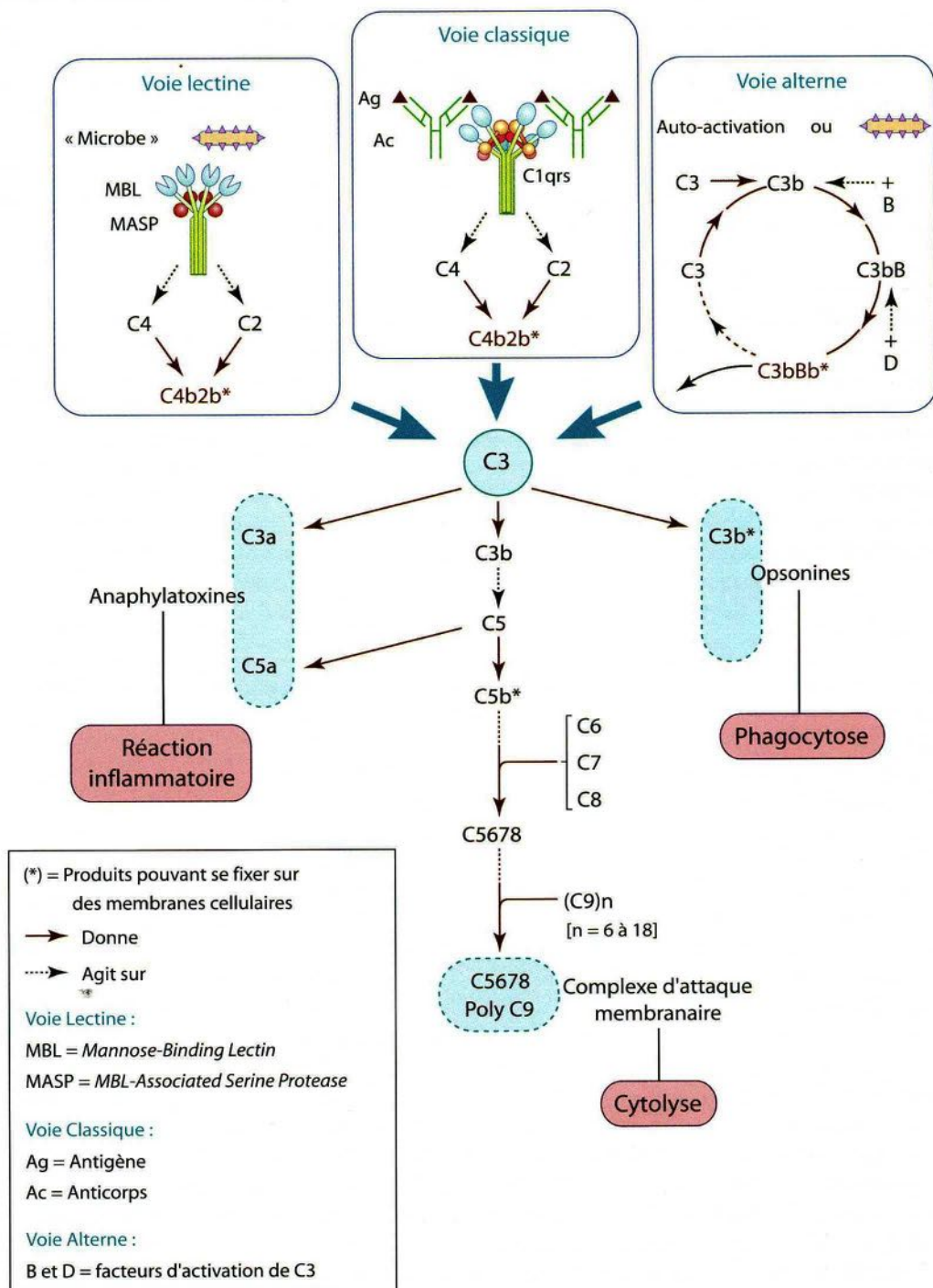
Stimulation de l'immunité spécifique

La réponse inflammatoire non spécifique immédiatement déclenchée par la pénétration de micro-organismes dans les muqueuses est associée au développement d'une réponse immunitaire spécifique dans les organes lymphoïdes secondaires drainant le territoire (nœuds lymphatiques, rate). La réponse immunitaire spécifique correspond à la stimulation des lymphocytes T et B spécifiques de l'antigène, elle est très étroitement associée à l'immunité naturelle, tant pour son déclenchement que pour la phase effectrice. Le déclenchement de la réponse immunitaire spécifique dépend de cellules de l'immunité innée, les CPA, qui sont nécessaires à l'activation des lymphocytes T. La stimulation des T CD4⁺ par les CPA se traduit par l'apparition de Thelper (Th) qui sont nécessaires à la stimulation des cellules responsables des fonctions effectrices cellulaires (T cytotoxiques) ou humorales (plasmocytes sécrétant les anticorps).

Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA)

Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) jouent un rôle déterminant dans la réponse immunitaire en assurant la transition entre l'immunité innée et l'immunité acquise spécifique. En effet, les CPA activent les lymphocytes T et orientent la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ en lymphocytes Th1 ou Th2. Cette polarisation des T CD4⁺ détermine l'apparition d'une réponse antimicrobienne puissante avec activation de Tcytotoxiques (Tc) et production d'IgG (réponse Th1 majoritaire), d'une réponse inflammatoire forte ou d'une allergie (réponse Th2 majoritaire). Le type de CPA activé lors de la réponse innée et le mode d'activation de ces cellules déterminent la polarisation Th1 ou Th2. La majorité des CPA est issue d'un précurseur myéloïde commun progressivement différencié en monocytes/macrophages, cellules dendritiques (mDC) ou cellules de Langerhans (§ Origine et différenciation des lignées leucocytaires). Une petite proportion de CPA est d'origine lymphoïde et présente un aspect plasmocytaire (pDC = *Plasmacytoid Dendritic Cells* »). Les CPA se distinguent les unes des autres par leur localisation tissulaire et l'expression de marqueurs moléculaires de surface. Les tissus conjonctifs cutanés et muqueux possèdent une population hétérogène de cellules résidentes qui sont capables de reconnaître les motifs microbiens et de répondre à leur pénétration en déclenchant une réaction inflammatoire et une réponse immunitaire spécifique. Les macrophages et les cellules dendritiques (macrophages/DC) expriment différents récepteurs membranaires (PRR) qui leur permettent de reconnaître les motifs microbiens (PAMP) et de les phagocyter. La stimulation des TLR induit une activation cellulaire qui permet le passage d'une forme cellulaire immature (ou au repos) à une forme mature (ou active), qui se traduit par une modification de l'expression des molécules membranaires et la sécrétion de cytokines et de diverses enzymes. Les principales cytokines sécrétées par les macrophages/DC sont des cytokines pro-inflammatoires, IL-1, IL-6, TNF α et des chimiokines (IL-8) qui contribuent au recrutement des leucocytes circulants. Le remaniement de l'expression moléculaire de surface permet aux macrophages/DC de quitter le tissu conjonctif et d'atteindre les vaisseaux lymphatiques qui les

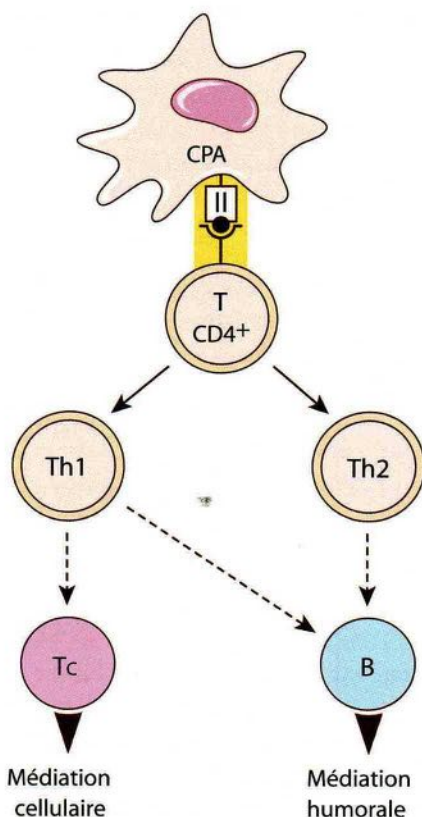
Figure 2.26 : activation du complément. La C3 convertase C4b2b est parfois désignée par sa nomenclature historique « C4b2a ».



conduisent jusqu'aux nœuds lymphatiques. Ainsi, la maturation des cellules dendritiques s'accompagne d'une augmentation de l'expression membranaire de CCR7 dont le ligand (CCL21) est sécrété par les cellules endothéliales des vaisseaux lymphatiques en cas d'inflammation. De même, les cellules de Langerhans intra-épithéliales qui endocytent un antigène subissent une maturation qui se traduit par l'inhibition de l'expression des molécules qui les lient aux kératinocytes (E-cadhérine, $\alpha 6$ intégrine) et l'augmentation de l'expression membranaire de CCR7.

Une fois dans les organes lymphoïdes secondaires, les CPA stimulent les lymphocytes T CD4⁺ en leur présentant les peptides antigéniques qui proviennent de la dégradation intracellulaire des agents pathogènes endocytés. En plus de cette stimulation directe qui nécessite un contact intercellulaire étroit restreint à l'antigène et fait intervenir des corécepteurs et des molécules d'adhésion, les CPA sécrètent des cytokines activatrices des lymphocytes T. La nature des cytokines produites par les CPA oriente la différenciation des T CD4⁺ vers Th1 ou Th2. Ainsi, la sécrétion d'IL-12 par la CPA induit une différenciation vers Th1 et une réponse antimicrobienne humorale (IgG) et cellulaire (Tc) puissante (Figure 2.27).

Figure 2.27 : les populations cellulaires impliquées dans la réponse immunitaire spécifique. Les lymphocytes T CD4⁺ naïfs stimulés par un épitope présenté par une CPA se différencient en Th1 ou Th2. Les cytokines sécrétées par les Th1 participent à l'activation des lymphocytes T CD8⁺ et à leur différenciation en Tc. Les cytokines sécrétées par les Th1 et les Th2 participent à l'activation des lymphocytes B, orientent la commutation isotypique, activent la différenciation plasmocytaire et la sécrétion d'anticorps. CPA = cellule présentant l'antigène, Th = T helper, Tc = T cytotoxique.



Coopérations cellulaires nécessaires à la stimulation des effecteurs

Le stade initial de l'activation du système immunitaire spécifique fait intervenir une coopération entre CPA et lymphocytes T CD4 + qui stimule la différenciation d'une population de Th. Les étapes ultérieures nécessaires à l'apparition des effecteurs font intervenir deux autres types de coopérations cellulaires :

- une coopération CPA/TCD8 +/Th1 qui conduit à l'expansion clonale des TCD8 + qui reconnaissent l'antigène et à leur différenciation en T cytotoxiques (Tc) ;
- une coopération B/Th qui induit l'expansion clonale des lymphocytes B ayant reconnu l'antigène et leur différenciation plasmocytaire, les plasmocytes synthétisant les anticorps spécifiques de l'antigène.

Les cellules et les molécules effectrices obtenues participent à l'inflammation et à l'élimination des antigènes microbiens. En plus de l'apparition des effecteurs, l'immunité spécifique est caractérisée par la constitution de clones de cellules mémoire. Ainsi, lors d'un second contact avec le même pathogène, le système immunitaire spécifique agit beaucoup plus rapidement, avec une intensité plus forte et une affinité plus importante. Ceci se traduit par une neutralisation efficace précoce et une élimination rapide des pathogènes qui limite, ou même supprime, les symptômes de la maladie. La mémoire immunitaire est une caractéristique de l'immunité spécifique, elle n'existe pas dans l'immunité innée qui se développe toujours de manière équivalente, quel que soit le nombre de contacts antérieurs avec un pathogène donné. C'est cette mémoire immunitaire qui est sollicitée en cas de vaccination. En effet, le vaccin est constitué d'une forme non infectieuse mais analogue au pathogène d'un point de vue antigénique. La stimulation vaccinale déclenche une immunité spécifique active contre les déterminants antigéniques du pathogène, plaçant l'organisme dans un état immun qui lui permet de réagir avec une efficacité maximale lorsqu'il se trouve en contact avec l'agent infectieux.

Les effecteurs cellulaires et moléculaires de l'immunité spécifique

Chez un individu non immunisé, les effecteurs spécifiques de la réponse immunitaire n'apparaissent dans la circulation sanguine que 3 à 6 jours après l'introduction de l'antigène (réponse primaire). En cas d'infection intracellulaire, la séquestration des antigènes contribue à retarder l'apparition des effecteurs (§ Délais de séroconversion en réponse antivirale). Chez un individu immunisé, les effecteurs sont déjà présents dans le sang (anticorps circulants) ou très rapidement réactivables par la présence de lymphocytes T et B mémoires (réponse secondaire).

Les effecteurs spécifiques produits dans les organes lymphoïdes secondaires rejoignent la circulation sanguine qui les conduit vers les territoires infectés. L'inflammation présente au niveau du site infecté est associée à une activation endothéliale qui se traduit par une fuite plasmatique et une activation de la diapédèse leucocytaire qui permettent le passage des anticorps et des lymphocytes T vers le tissu infecté.

Les lymphocytes T cytotoxiques (Tc)

Les lymphocytes T cytotoxiques (Tc) sont des cellules capables de lyser spécifiquement toute cellule de l'organisme qui exprime des peptides étrangers associés aux antigènes d'histocompatibilité de classe I (HLA-A, HLA-B et HLA-C). Ceci signifie que les lymphocytes Tc sont des effecteurs majeurs dans les cas d'infections par des micro-organismes intracellulaires (virus, bactéries intracellulaires). En particulier, en cas d'infection virale, les lymphocytes Tc lysent les cellules infectées et détruisent de ce fait les cellules qui produisent les nouvelles particules virales. L'action des lymphocytes Tc est déterminante pour éviter la prolifération virale, elle est complémentaire de celle des anticorps.

En règle générale, les lymphocytes Tc sont des lymphocytes CD8 + qui expriment un récepteur $T\alpha\beta$ (TCR $\alpha\beta$) et possèdent des granules cytoplasmiques. Chaque lymphocyte Tc exprime des TCR de spécificité unique qui reconnaissent un déterminant antigénique présenté par une molécule HLA de classe I. Un lymphocyte Tc reconnaît sa cible parce qu'elle exprime un « soi altéré », et y adhère. Cette reconnaissance de la cible induit une activation cellulaire qui se traduira par l'exocytose du contenu des granules et l'expression membranaire du ligand de la protéine Fas (LFas). Le lymphocyte Tc lyse la cellule cible par un mécanisme calcium-dépendant qui correspond à la libération du contenu des granules dans l'espace intercellulaire, et un mécanisme calcium-indépendant par liaison LFas/Fas. Les granules contiennent de la perforine qui va s'intégrer dans la membrane de la cellule cible et y former des pores, perturbant ainsi les échanges transmembranaires et permettant le passage de sérines protéases elles aussi contenues dans les granules : les granzymes. L'action lytique des granzymes, combinée aux perforations membranaires, induit la lyse de la cellule cible. La liaison du LFas sur la protéine membranaire Fas génère un signal d'apoptose et donc le suicide de la cellule cible.

Les lymphocytes T helper (Th)

Les lymphocytes Th ne sont pas des lymphocytes effecteurs puisqu'ils ne possèdent pas d'action directe permettant l'élimination de l'antigène. Cependant, ils font partie des cellules recrutées lors d'une inflammation et participent à la réaction locale par leurs capacités de synthèse de cytokines.

Les anticorps

Les anticorps reconnaissent et se fixent spécifiquement sur des motifs antigéniques (épitopes) exprimés par les micro-organismes. Chaque molécule d'anticorps possède deux sites de liaison à l'antigène (paratope), ce qui lui confère des propriétés agglutinantes. La liaison épitope-paratope est non covalente et présente une affinité variable. La présence dans le sang d'anticorps spécifiques d'épitopes microbiens signe la stimulation du système immunitaire vis-à-vis du micro-organisme, et donc l'infection présente ou passée de l'individu porteur. Ainsi, la recherche d'anticorps sériques permet-elle le diagnostic et le suivi de diverses infections virales ou bactériennes. Les anticorps possèdent une action effectrice qui contribue à la neutralisation et l'élimination des micro-organismes.

La neutralisation par les anticorps s'effectue au niveau cellulaire ou particulaire en limitant la fixation des bactéries ou des levures sur les tissus, ou en inhibant la liaison entre une protéine virale et son récepteur cellulaire, limitant ainsi l'infection cellulaire. Les anticorps synthétisés contre des toxines bactériennes ou fongiques peuvent neutraliser leur action.

Les anticorps contribuent à l'élimination des micro-organismes par différents mécanismes :

- en activant les protéines du complément par la voie classique ;
- en favorisant la phagocytose des micro-organismes par opsonisation ;
- en activant les cellules NK.

La voie classique d'activation du complément est déclenchée par un complexe antigène-anticorps lorsque les anticorps sont des IgM, des IgG1 ou des IgG3. Cette activation se traduit par la libération des anaphylatoxines (C3a, C4a et C5a), la production de C3b et la formation d'un complexe d'attaque membranaire (Figure 2.24). Les protéines du complément peuvent être activées par des voies non-spécifiques qui ne font pas intervenir les anticorps. Cependant, l'activation par la voie classique permet une amplification considérable de la production des effecteurs complémentaires, et donc une meilleure élimination des micro-organismes.

Les anticorps de classe IgG sont des opsonines. En effet, les phagocytes comme les macrophages ou les polynucléaires neutrophiles possèdent des récepteurs pour le fragment Fc des IgG (RFc γ = CD16)

et lorsque les micro-organismes sont recouverts d'IgG, l'interaction IgG/RFc γ induit une phagocytose dont l'efficacité est très supérieure à celle de la phagocytose spontanée. De même que les phagocytes, les cellules NK possèdent un RFc γ et leur activité de cytolyse est amplifiée lorsque la cellule cible est recouverte d'anticorps (= mécanisme ADCC ou *Antibody Dependant Cell Cytolysis*).

Références bibliographiques

- Akira S, Hemmi H : Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family., *Immunol Lett* 2003, 85 : 85-95.
- Akira S, Takeda K and Kaisho T : Toll-like receptors : critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 675-80.
- Aljurf M, Ezzat A and Musa MO : Emerging role of $\gamma\delta$ T-cells in health and disease. *Blood Reviews* 2002 ; 16 : 203-6.
- Athman R, and Philpott D : Innate immunity via Toll-like receptors and Nod proteins. *Curr Opin Microbiol* 2004 ; 7 : 25-32.
- Bals R, : Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir Res* 2001, 1 : 141-150.
- Boman HG : Antibactériel peptides : basic facts and emerging concepts. *J Int Med* 2003 ; 254 : 197-215.
- Brandtzaeg P : Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system. *APMIS* 1995 ; 103 : 1-19.
- Brandtzaeg P, Farstad IN and Haraldsen G : Regional specialization in the mucosal immune system : primed cells do not always home along the same track. *Immunol Today* 1999 ; 20 : 267-77.
- Brandtzaeg P, Farstad IN, Johansen E, Morton HC, Norderhaug IN and Yamanaka T : The B-cell system of human mucosae and exocrine glands. *Immunol Rev* 1999 ; 171 : 45-87.
- Brogden KA : Antimicrobial peptides : pore formers or metabolic inhibitors in bacteria ? *Nat Rev Microbiol* 1995 ; 3 : 238-50.
- Cambi A and Figdor CG : Dual function of C-type lectin-like receptors in the immune system. *Curr Opin Cell Biol* 2003 ; 15 : 539-46.
- Carding SR and Egan PJ : $\gamma\delta$ T cells : functional plasticity and heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 336-45.
- Chamaillard M, Girardin SE, Viala J and Philpott D : Nods, Nalps and Naip : intracellular regulators of bacterial-induced inflammation. *Cell Microbiol* 2003 ; 5 : 581-92.
- Chardin H : Immunité de la cavité buccale. *Encycl Méd Chir (éditions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés)*, 2002, 22-009-T-10, 12p.
- Dale BA and Krisanaprakornkit S : Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *J Oral Pathol Med* 2001 ; 30 : 321-7.
- Farnaud S and Evans RW : Lactoferrin-a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol Immunol* 2003 ; 40 : 395-405.
- Faurschou M and Borregaard N : Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes and Infection* 2003 ; 5 : 1317-27.
- Girardin SE and Philpott D : The role of peptidoglycan recognition in innate immunity. *Eur J Immunol* 2004 ; 34 : 1777-82.
- Herre J, Gordon S and Brown GD : Dectin-1 and its role in the recognition of β -glucans by macrophages. *Molec Immunol* 2004 ; 40 : 869-76.

- Iscaki S and Bouvet JP : Human secretory immunoglobulin A and its role in mucosal defense. *Bull Inst Pasteur* 1993 ; 91 : 203-24.
- Iwasaki A and Medzhitov R : Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2004 ; 5 : 987-95.
- Kavanagh K and Dowd S : Histatins : antimicrobial peptides with therapeutic potential. *J P P* 2004 ; 85 : 285-9.
- Kilpatrick DC : Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfusion Medicine* 2002 ; 12 : 335-51.
- Lehrer RI : Primate defensins. *Nat Rev Microbiol* 2004 ; 2 : 727-38.
- Linehan SA, Martinez-Pomares S and Gordon S : Macrophage lectins in host defence. *Microbes and Infection* 2000 ; 2 : 279-88.
- Lu J, Theh C, Kishore U and Reid KBM : Collectins and ficolins : sugar pattern recognition molecules of the mammalian innate immune system. *Biochim Biophys Acta* 2002 ; 1572 : 387-400.
- Marshall JS and Jawdat DM : Mast cells in innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2004 ; 114 : 21-7.
- Mayer-Scholl A, Averhoff P and Zychlinsky A : How do neutrophils and pathogens interact ? *Curr Opin Microbiol* 2004 ; 7 : 62-6.
- Neish AS : The gut microflora and intestinal epithelial cells : a continuing dialogue. *Microbes and Infection* 2002 ; 4 : 309-17.
- Perry M and Whyte A : Immunology of the tonsils. *Immunol Today* 1998 ; 19 : 414-21.
- Philpott DJ and Girardin SE : The role of Toll-like receptors and Nod proteins in bacterial infection. *Molec immunol* 2004 ; 41 : 1099-108.
- Raj PA and Dentino AR : Current status of defensins and their role in innate and adaptive immunity. *FEMS Microbiol Lett* 2002 ; 206 : 9-18.
- Sansonetti PJ : War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 953-64.
- Takeda K, Kaisho T and Akira S : Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003 ; 21 : 335-76.
- van Nieuw Amerongen A, Bolscher JGM and Veerman ECI : Salivary proteins : protective and diagnostic value in cariology. *Caries Res* 2004 ; 38 : 247-53.
- Yang D, Biragyn A, Kwak LW and Oppenheim JJ : Mammalian defensins in immunity : more than just microbicidal. *Trends Immunol* 2002 ; 23 : 291-6.

Microbiologie Clinique

Méthodes de diagnostic microbiologique	194
L'odontologie	214
Les infections du parodonte	256
Stomatites infectieuses	289
Les infections bactériennes à porte d'entrée buccale	304
Les antibiotiques et les antiseptiques ..	315

Méthodes de diagnostic microbiologique

(K. Yasukawa, H. Chardin, I. Madinier)

Diagnostic bactériologique

Le diagnostic bactériologique est fondé sur la recherche et l'identification de la souche bactérienne responsable de la pathologie. Il doit également permettre d'évaluer les possibilités thérapeutiques et notamment de déterminer quel est l'antibiotique le mieux adapté pour traiter l'infection. Il comprend le diagnostic de genre et d'espèce, ainsi que la détermination de marqueurs épidémiologiques (sérotype, antibiotype, facteurs de virulence...). Par ailleurs, on distingue le diagnostic direct qui repose sur l'isolement et l'identification de la bactérie, et le diagnostic indirect ou sérologique qui est fondé sur la mise en évidence d'anticorps spécifiques dirigés contre la bactérie à identifier (*Treponema pallidum*, *Coxiella burnetii*...).

Habituellement, les différentes espèces bactériennes sont identifiées par leurs caractères morphologiques, moléculaires, métaboliques et génétiques, ainsi que par leur sensibilité aux antibiotiques. Les méthodes conventionnelles de diagnostic reposent sur des critères phénotypiques et permettent d'identifier des bactéries vivantes et cultivables, isolées à partir d'un prélèvement biologique. Les méthodes de diagnostic immunologique mettent à profit la spécificité de la réaction immunoglobuline/antigène et permettent soit la détection des antigènes bactériens à l'aide d'anticorps spécifiques, soit la détection d'immunoglobulines IgG ou IgM témoins de la réaction immunitaire humorale de l'hôte dirigée contre la bactérie d'intérêt. Les méthodes immunologiques comprennent notamment le test d'agglutination au latex, la cytométrie en flux, le test ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), l'immunofluorescence directe et l'immunofluorescence indirecte. Les méthodes de diagnostic moléculaire sont fondées sur des critères génotypiques et autorisent la mise en évidence d'espèces non cultivables ou d'espèces cultivables à croissance lente et/ou difficile. Elles reposent notamment sur la détermination du GC% (étude du contenu du génome en guanine et cytosine), sur l'analogie de séquence ou sur la recherche de séquences caractéristiques. Elles permettent ainsi une identification rapide et discriminative, notamment dans le cas d'un prélèvement polymicrobien, réalisé en odontostomatologie.

Chaque type de diagnostic présentant des avantages et des inconvénients spécifiques, ils peuvent être utilisés de façon complémentaire.

Diagnostic conventionnel

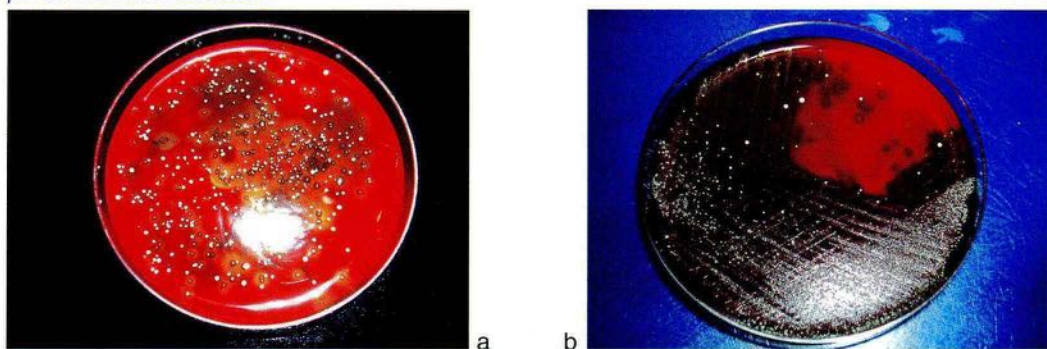
Principes généraux

Le diagnostic conventionnel repose sur la mise en culture du prélèvement clinique et l'identification des colonies présentes qui sont capables de se développer dans les conditions de culture choisies. La stratégie de diagnostic est donc différente selon le but recherché. Si le diagnostic a pour but d'affirmer la présence d'une bactérie susceptible d'être à l'origine de la pathologie, les conditions de culture choisies seront celles qui permettent le développement de la souche d'intérêt. Par exemple, la mise en évidence de *S. pyogenes* à partir d'un prélèvement pharyngé confirme le diagnostic d'angine bactérienne et la nécessité d'un traitement antibiotique. Si, par contre, le diagnostic consiste à identifier la présence d'une bactérie pathogène non connue, il peut être nécessaire d'utiliser une batterie de milieux de culture dont l'ensemble permettra d'isoler un maximum d'espèces différentes. Un antibiogramme réalisé sur la souche pathogène permet ensuite de déterminer quel sera le traitement antibiotique optimal.

Méthodologie générale

Le prélèvement clinique est transporté au laboratoire où il est mis en culture pour permettre le développement et l'identification des bactéries présentes (Figure 3.1a). Les prélèvements sont d'origines variées : muqueuses, liquides biologiques (sang, urine, crachats...), lésion collectée... Si le prélèvement est présumé stérile en conditions normales, il peut être mis en culture, puis analysé si la culture est positive. S'il s'agit d'un prélèvement non stérile, il est étalé pour séparer les différentes souches bactériennes (Figure 3.1b). Le choix du milieu et des conditions de culture dépend de la recherche à effectuer (type de gélose, conditions aérobies/anaérobies, etc.).

Figure 3.1 : bactéries isolées de la cavité buccale d'un patient et ensemencées sur une gélose sélective (Columbia ANC, 5 % sang de mouton). a. Ensemencement par la technique dite par « inondation ». b. Isolement par la « méthode des stries ».



L'identification d'une bactérie au niveau de l'espèce consiste à obtenir une culture pure de celle-ci. Elle repose sur la comparaison de divers caractères phénotypiques que présente la souche à étudier par rapport à une souche de référence : caractères morphologiques, moléculaires, métaboliques, et sensibilité aux antibiotiques (Tableau 3.1). Les caractères morphologiques sont évalués au niveau macroscopique par l'aspect des colonies (taille, pigmentation, aspect des bords...) et au niveau microscopique par un examen à l'état frais (forme, mobilité, groupement...) ou après coloration (Gram, Ziehl-Neelsen, encre de Chine...). Les critères moléculaires permettent d'identifier une antigénicité caractéristique, la présence d'enzymes ou de toxines. Les critères métaboliques sont déterminés soit par des tests d'orientation rapide (catalase, oxydase, coagulase...), soit par des galeries de tests métaboliques (galeries API...) (Figure 3.2) établies de manière standard selon le genre à tester. La sensibilité aux antibiotiques est évaluée par la réalisation d'un antibiogramme qui permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), puis la concentration minimale bactéricide (CMB). Les méthodes les plus classiques sont des méthodes sur gélose (Figures 3.3 et 3.4) ou en milieu liquide lorsque la culture sur gélose est difficile. Il existe également des automates qui peuvent effectuer en quelques heures une identification et un antibiogramme.

Ces méthodes n'évaluent qu'une faible partie du phénotype des bactéries et n'évaluent au mieux que 5 à 20 % du potentiel génétique de la souche à identifier. D'autre part, plusieurs facteurs peuvent fausser les résultats comme les variations de phénotype (changement de phase du gène, plasmide...), le profil de souches fraîchement isolées/longtemps conservées, les conditions de culture, etc. Enfin, ces techniques ne permettent pas de détecter les bactéries non cultivables et ne sont pas adaptées dans le diagnostic des bactéries à croissance lente ou difficile.

Tableau 3.1 : exemples de critères et de caractères utilisés et recherchés dans les méthodes conventionnelles de diagnostic.

Caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques
✓ Morphologie des colonies (taille, contour, couleur, relief...)
✓ Morphologie
✓ Mobilité
✓ Coloration (Gram, Ziehl, encre de Chine...)
Critères moléculaires
✓ Recherche de toxines
✓ Recherche d'antigènes
✓ Recherche d'enzymes
Critères métaboliques
✓ Croissance (température, pH, salinité, O ₂ , CO ₂ ...)
✓ Tests unitaires d'orientation rapide (catalase, oxydase, coagulase, optochine...)
✓ Galeries d'identification (Système API...)
Sensibilité aux antibiotiques
✓ Détermination de la concentration minimale inhibitrice (E-Test, méthode des disques...)
✓ Détermination de la concentration minimale bactéricide

Figure 3.2 : galerie biochimique d'identification rapide des streptocoques : API Rapld Strep 32®.

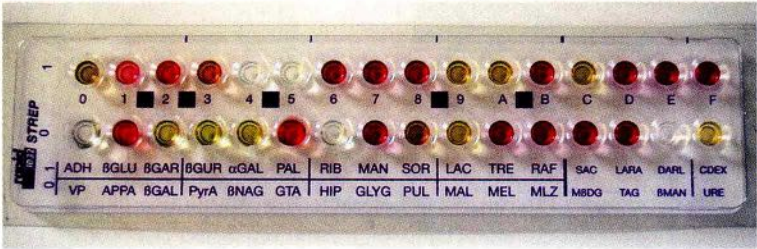


Figure 3.3 : exemple d'antibiogramme par la méthode des disques (diffusion sur gélose).

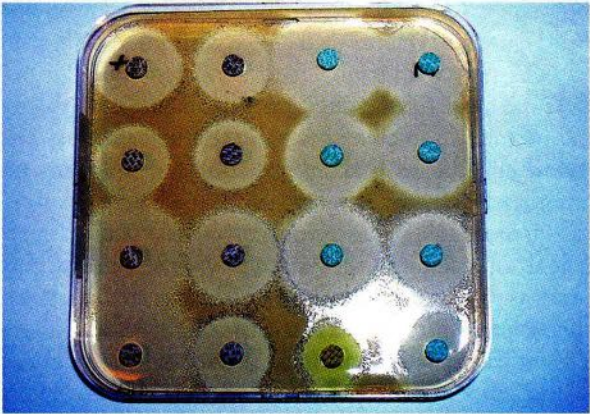
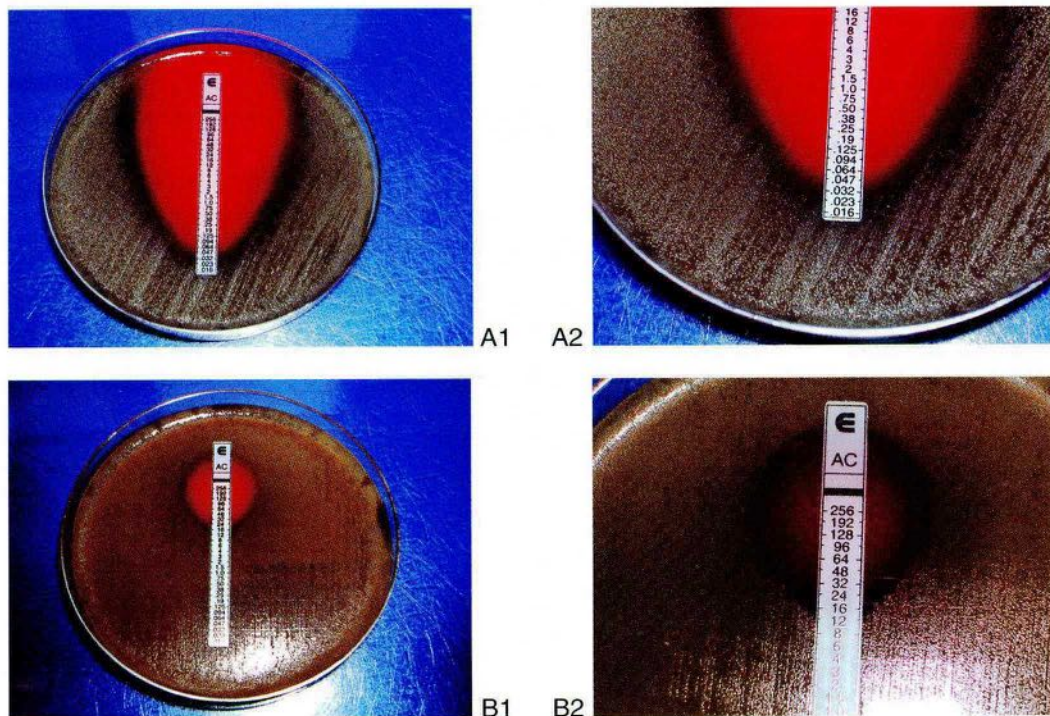


Figure 3.4 : exemple d'antibiogramme par la méthode E-Test® (diffusion sur gélose) sur des souches de bactéries orales provenant d'un même patient. A1 et A2 : *S. oralis*, E-Test amoxicilline, la CMI est lue à 0,047, la bactérie est sensible (critères CA-SFM 2005). B1 et B2 : *S. mitis*, E-Test amoxicilline, la CMI est lue à 16, la bactérie est résistante (critères CA-SFM 2005).



Méthodes d'étude des bactéries orales

L'examen direct

L'examen direct au microscope à contraste de phase permet d'observer les espèces mobiles (*Campylobacter*, *Selenomonas*, *Treponema*...). Il présente peu d'intérêt en clinique : le pourcentage d'espèces mobiles est corrélé à la profondeur des poches parodontales et ne renseigne pas mieux que la mesure de la profondeur des poches sur la sévérité de l'atteinte parodontale ou la réduction de l'inflammation après un curetage-surfçage radiculaire. L'examen direct ne permet pas de prédire l'activité d'une parodontite.

Identification après mise en culture

Les conditions de prélèvement, de transport et d'isolement des bactéries orales dépendent du genre recherché. En effet, la flore orale est extrêmement diversifiée et chaque genre ou espèce présente des conditions de culture propres. Chez l'adulte sain, la flore orale commensale est composée de plus de 300-500 espèces bactériennes, auxquelles peuvent s'ajouter des mycoplasmes, des levures, des protozoaires et des virus. On estime à près de 10 %, le nombre de micro-organismes pouvant être régulièrement isolés en utilisant des méthodes de culture conventionnelles. Les bactéries indigènes sont souvent désignées dans l'étiologie de deux grandes pathologies orales : la maladie carieuse et la maladie parodontale.

En règle générale, l'identification des bactéries anaérobies est plus contraignante et peut demander un temps de culture de plusieurs jours. Pour l'isolement des bactéries anaérobies strictes, les prélèvements bactériologiques oraux doivent être envoyés dans les meilleurs délais au laboratoire dans un flacon de transport anaérobie. L'échantillon est mis en suspension dans 1 mL de milieu de Schaedler au fauteuil, puis injecté dans le flacon à travers le bouchon.

Au laboratoire, l'inoculum est ensemencé pur et dilué à 10^{-2} et 10^{-4} . Six milieux permettent d'identifier les flores dominantes, ils seront choisis selon le genre à identifier :

- La gélose au sang en aérobose permet la croissance des espèces aérobies (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, etc.).
- La gélose au sang en anaérobiose permet la croissance des espèces anaérobies (streptocoques oraux, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, etc.).
- La gélose au sang avec vancomycine et kanamycine en anaérobiose permet la sélection des bacilles Gram négatifs anaérobies stricts (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, etc.).
- La gélose chocolat (sang cuit) sous 5% de CO_2 est utilisée pour les espèces microaérophiles (*A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, etc.).
- La gélose chocolat à la bacitracine sous 5% de CO_2 est un milieu sélectif pour les *Haemophilus* et *Neisseria*.
- Le milieu «*Actinobacillus*» sous 5% de CO_2 est un milieu dépourvu de sang contenant du sérum de veau, de l'extrait de levure, de la vancomycine, de la bacitracine et de l'amphotéricine B, il est sélectif d'*A. actinomycetemcomitans* et de *Neisseria*.

Le prélèvement initial et les boîtes anaérobies doivent rester le moins longtemps possible à l'air libre, soit environ 20 à 30 minutes. Les cultures anaérobies sont réalisées sous sachet scellé ou en jarre contenant un sachet générateur d'anaérobiose, ou encore en enceinte anaérobie reliée à une pompe et à des bouteilles de gaz. Les boîtes en aérobose sont incubées 24 heures, et toutes les autres au moins cinq jours à 37°C. Le bactériologiste détermine les colonies prédominantes à ré-isoler pour identification et antibiogramme.

Actuellement, dans le cadre de la pratique libérale en odonto-stomatologie, les tests diagnostiques reposant sur ces techniques ne sont proposés que par un seul laboratoire privé (LabOral® culture, SGS/LabOral) et ne concernent que la parodontologie. Les recommandations issues du travail d'expertise collective de l'Inserm «*Maladie parodontale : thérapeutiques et préventions*» et de l'ANAES stipulent que les diagnostics bactériologique et immunologique ne peuvent être proposés qu'en cas de parodontite agressive ou de parodontite réfractaire aux traitements. Elles précisent également que la mise en œuvre d'un examen bactériologique avec culture et antibiogramme est conditionnée par la possibilité de disposer d'un milieu de transport assurant la survie des espèces anaérobies et capnophiles, et d'un laboratoire pouvant effectuer une culture en anaérobie. Les tableaux 3.2 et 3.3 résument les avantages et les inconvénients des diagnostics bactériologique et immunologique en odonto-stomatologie d'après les recommandations émises par l'Inserm et l'ANAES.

Des méthodes simplifiées de diagnostic conventionnel sont actuellement utilisées dans l'évaluation du risque carieux. Elles sont fondées sur l'utilisation de milieux sélectifs. Le praticien peut soit réaliser le test au cabinet dentaire (CRT® bacteria, Ivoclar Vivadent), soit effectuer le prélèvement puis l'envoyer à un laboratoire de diagnostic (test salivaire pour évaluer le risque carieux, SGS/LabOral). Ces tests permettent la détermination semi-quantitative et simultanée de *Streptococcus mutans* et des Lactobacilles. Cette recherche peut être accompagnée d'une analyse biologique qui évalue le débit salivaire ainsi que le pouvoir tampon de la salive. Toutefois, l'état actuel des connaissances sur l'étiopathogénie de la maladie carieuse, ainsi que le matériel et les méthodes utilisés limitent l'intérêt scientifique et le bien-fondé de ces tests en pratique quotidienne.

Tableau 3.2 : avantages et inconvénients du diagnostic bactériologique en odonto-stomatologie d'après les recommandations émises par l'Inserm et l'ANAES.

Avantages
✓ Aspect non ciblé des techniques qui permettent ainsi d'identifier un grand nombre de micro-organismes
✓ Possibilité de réaliser un antibiogramme après isolement des bactéries pathogènes d'intérêt
Inconvénients
✓ Coût élevé
✓ Durée de l'examen (5 à 6 semaines)
✓ Faible sensibilité de la méthode
✓ Variabilité des compétences et de l'expérience du microbiologiste
✓ Culture de certains genres ou espèces difficile, voire impossible (<i>Treponema</i> spp., <i>Tannerella forsythia</i> ...)

Tableau 3.3 : avantages et inconvénients du diagnostic immunologique en odonto-stomatologie d'après les recommandations émises par l'Inserm et l'ANAES.

Avantages
✓ Rapidité (quelques heures)
✓ Travail sur des échantillons non vivants (bactéries mortes)
✓ Méthode simple et facile à standardiser (adaptable en kit pour réaliser des tests diagnostiques éventuellement au cabinet dentaire)
✓ Coût modéré
✓ Sérotypage (apport d'éléments d'information épidémiologique)
Inconvénients
✓ Méthode ciblée de recherche des micro-organismes (identifier ce que l'on cherche)
✓ Sensibilité médiocre (de l'ordre de 10^{-4})
✓ Spécificité très variable selon les réactifs utilisés : excès de spécificité des anticorps monoclonaux et manque de spécificité des réactifs polyclonaux
✓ Nécessité de disposer de contrôles positifs et négatifs afin d'interpréter correctement les résultats des essais
✓ Impossibilité de connaître la sensibilité aux antibiotiques sans isolement
✓ Généralement, seule une semi-quantification est obtenue (ELISA, agglutination sur latex...)

Diagnostic moléculaire

Introduction

Chaque espèce possède dans son génome au moins une séquence d'acides nucléiques (ADN ou ARN) qui lui est propre et qui la distingue des autres espèces. Le diagnostic moléculaire fait appel à des techniques fondées sur l'étude, la détection et la modification de ces séquences d'ADN ou d'ARN. En microbiologie, ces techniques permettent d'étudier, de classer et d'identifier les micro-organismes. Ainsi, dans le cadre du diagnostic microbiologique, à partir d'un prélèvement effectué sur un patient, on peut rapidement et simultanément détecter, identifier, voire quantifier des bactéries pathogènes en s'affranchissant des techniques conventionnelles (culture, isolement, tests phénotypiques). De plus, contrairement aux méthodes de culture, il n'est pas nécessaire de préserver la vitalité cellulaire en biologie moléculaire.

Actuellement, deux techniques principales sont employées et reposent sur l'utilisation de sondes nucléiques par hybridation et sur l'amplification génique. Cependant, d'autres techniques peuvent

être utilisées en épidémiologie et en taxonomie phylogénétique. Quelles que soient les méthodes mises en œuvre, il est impératif d'obtenir du matériel génétique (ADN ou ARN) de bonne qualité.

Les sondes nucléiques

Le principe

Le principe est de faire réagir l'ADN ou l'ARN bactérien à identifier (la cible), avec une séquence d'ADN ou d'ARN spécifique de la bactérie recherchée (la sonde). Cette technique repose sur le phénomène d'hybridation qui se produit entre ces deux séquences d'acides nucléiques et qui peut s'effectuer sur un support solide (nitrocellulose, nylon...) ou en milieu liquide. De plus, l'une de ces séquences est toujours marquée de manière radioactive, enzymatique ou chimique. Ainsi, lorsque l'hybridation entre la cible et la sonde se produit, un signal est émis par le complexe, et ce signal peut être étudié. Cette méthode permet alors la détection et l'identification de la cible.

L'hybridation sur un support solide peut être réalisée directement sur une membrane dans le cas du *dot blot* ou du *slot blot*. Elle peut également s'effectuer après électrophorèse des acides nucléiques en gel d'agarose, puis transfert sur une membrane de nitrocellulose ou de nylon dans la technique de *Southern blot*.

Quelle que soit la technique utilisée, la sonde doit s'hybrider de manière spécifique avec la séquence cible et non avec celles d'autres micro-organismes. Cette propriété détermine la spécificité de l'examen. La seconde difficulté réside dans la quantité de séquence cible qui peut être détectée, ce qui détermine la sensibilité du test. Pour pallier ce problème de sensibilité, des protocoles utilisant les sondes nucléiques incorporent une multiplication préalable *in vitro* soit par culture afin d'obtenir une quantité suffisante de micro-organismes et donc de cibles potentielles, soit par amplification génique, ce qui est plus rapide.

L'hybridation *in situ*

L'hybridation *in situ* ou HIS est une technique qui permet de mettre en évidence et de localiser des séquences d'acides nucléiques dans les cellules ou les tissus par l'utilisation de sondes complémentaires. Le marquage des sondes peut être réalisé par des isotopes radioactifs ou par des produits non radioactifs fluorescents (hybridation *in situ* en fluorescence ou FISH, *fluorescent in situ hybridization*) ou non fluorescents. En microbiologie, la meilleure cible est encore l'ARNr 16S. Cette technique donne également des informations sur la forme des bactéries, les regroupements inter-bactériens et leurs rapports avec les cellules hôtes.

Les puces à ADN ou bio-puces

Une puce à ADN ou bio-puce, est une miniaturisation du système de *dot blot* inversé. Elle est constituée d'un support solide (verre/nylon/plastique) de quelques cm² sur lequel les sondes sont déposées de façon organisée en réseau ou «array» puis fixées. Ces sondes sont représentées par plusieurs dizaines (faible densité) à plusieurs milliers (haute densité) de fragments d'ADN simple brin (amplicons, oligonucléotides). Ces sondes permettent, selon le principe d'hybridation, la détection, l'identification et la quantification de molécules d'acides nucléiques de séquence complémentaire, les cibles. Ces dernières peuvent provenir d'ADN génomique ou complémentaire (identification, diagnostic), d'ARN total ou d'ARN messager (analyse du transcriptome) (Figure 3.5).

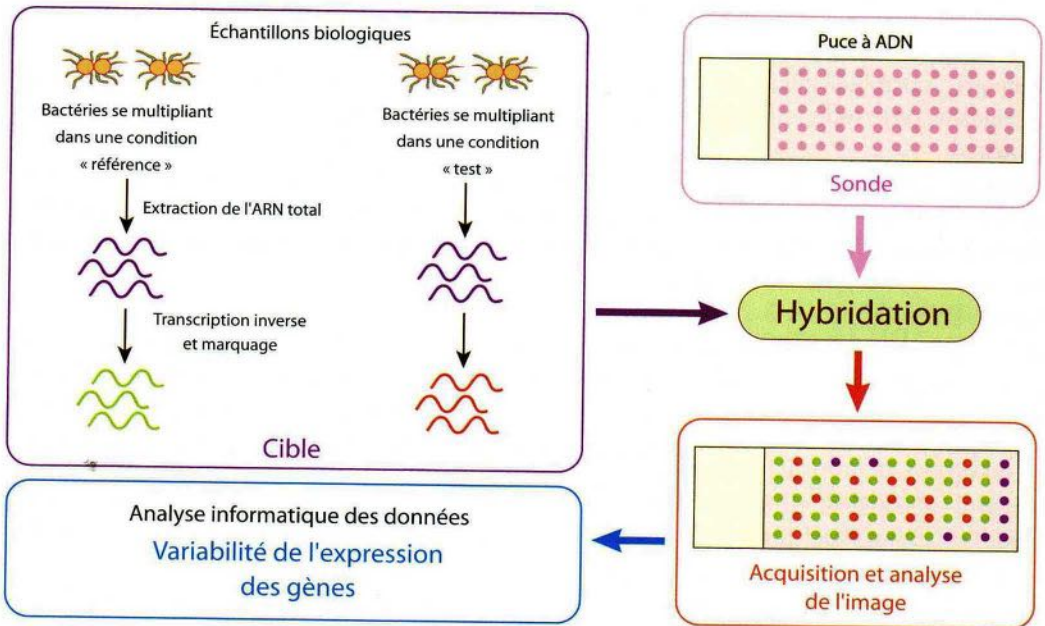
Cette technologie utilise les données issues des programmes de séquençage de génomes. Elle fournit une masse d'informations considérable et permet l'étude de plusieurs centaines, voire de plusieurs milliers de gènes en parallèle.

La puce à ADN peut être utilisée pour fournir simultanément plusieurs informations relevant du programme d'expression, c'est-à-dire du transcriptome d'un génome en fonction de sa situation physiologique ou pathologique. Elle peut également permettre d'identifier les mutations ou le poly-

morphisme dans de larges séquences nucléotidiques, de séquencer par hybridation, ou encore de réaliser le typage d'une espèce microbienne.

Dans le domaine des maladies infectieuses, la technologie des puces à ADN offre l'opportunité d'examiner en détail les relations entre hôtes et pathogènes. Des informations précieuses comme les déterminants microbiens de la réponse à l'hôte et les caractéristiques temporelles des interactions entre hôte et pathogène peuvent ainsi être abordées. L'autre volet des maladies infectieuses concerne la mise en évidence des facteurs génétiques qui rendent un micro-organisme pathogène et qui permettent l'invasion des tissus de l'hôte. Pour identifier ces facteurs, on utilise la méthode de génomique comparée, fondée sur le principe de l'hybridation hétérologue entre les séquences du génome de l'espèce de référence qui sont déposées sur la puce, et celles du variant pathogène. Ces approches de génomique comparée et de typage moléculaire permettent également la réalisation de puces de génotypage et de diagnostic. Un autre champ d'applications important des puces à ADN est celui de la recherche de nouvelles cibles antimicrobiennes.

Figure 3.5 : puce à ADN ou bio-puce : un exemple d'utilisation, le transcriptome. Des bactéries sont ensemencées dans un milieu de culture de « référence » et dans d'autres conditions de culture (test). Les bactéries se développant sur chaque milieu sont isolées et leur ARN total est extrait. Ces ARN servent de matrice pour synthétiser des ADNc marqués (fluorochromes par exemple) et constituent les cibles. Les cibles sont mises à hybrider sur la bio-puce (sondes). Après acquisition, l'image est analysée et les données obtenues sont traitées à l'aide d'un logiciel informatique. Le résultat final donne une liste de gènes dont l'expression varie selon les conditions de culture.



Les méthodes d'amplification génique

Le principe

Afin d'améliorer la sensibilité des méthodes diagnostiques, des systèmes permettant d'amplifier le signal obtenu lors d'une hybridation moléculaire entre la cible et la sonde ont été développés. Ces

méthodes mettent en œuvre soit l'amplification des sondes, soit l'amplification du signal (proprement dit), soit l'amplification de la cible.

L'amplification des sondes

L'amplification des sondes permet d'obtenir un nombre de copies comparable à celui qui est obtenu par l'amplification des cibles, c'est notamment la réaction de ligation en chaîne ou LCR, *Ligase Chain Reaction*.

L'amplification du signal (proprement dit)

L'amplification du signal permet d'augmenter la capacité d'un système à générer un signal, sans modifier la quantité de molécules cibles présentes initialement. La cible nucléique est capturée par une sonde composite qui permet deux hybridations concomitantes sur deux séquences différentes réalisant ainsi la constitution d'un édifice moléculaire branché à l'origine d'une amplification du signal, c'est la technique de l'ADN branché.

L'amplification de la cible

L'amplification de la cible peut s'effectuer soit par des méthodes d'amplification *in vivo* utilisant des bactéries, le clonage, soit par des méthodes d'amplification *in vitro* par voie enzymatique, la PCR ou *Polymerase Chain Reaction*.

Le clonage consiste à insérer une séquence, appelée insert, dans un vecteur (plasmide bactérien ou bactériophage) par des techniques de recombinaison/insertion, pour obtenir un ADN recombinant qui se répliquera dans une bactérie. Cela permet de disposer de nombreuses copies identiques d'une séquence (gène ou fragment de gène) *in vivo*. Cette technique autorise la constitution d'une banque d'ADN complémentaire et génomique. Ces séquences peuvent ensuite être étudiées, notamment par séquençage. Cette approche, bien qu'exhaustive, n'est actuellement pas utilisable en routine pour le diagnostic microbiologique en odontologie, car sa mise en œuvre est longue et fastidieuse. Cependant, cette technique a permis d'étudier la diversité microbienne au sein du sillon gingivodentaire.

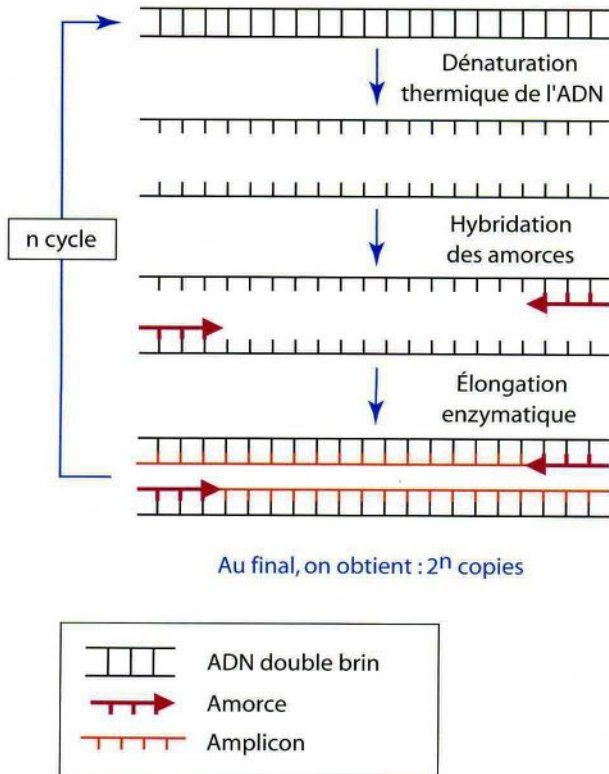
Les méthodes d'amplification par voie enzymatique (PCR et méthodes variantes) (Figure 3.6) reposent sur la répétition d'un processus en trois étapes. La première phase de dénaturation thermique de l'ADN double brin en ADN simple brin est suivie d'une étape d'hybridation des amorces de part et d'autre de la séquence à amplifier. Enfin, une dernière phase d'extension ou élongation enzymatique à partir des amorces permet la synthèse d'un brin d'ADN complémentaire par une ADN polymérase ADN dépendante thermostable. À partir d'une matrice cible, un nombre considérable de copies identiques est généré (jusqu'à 10^9 copies) : les amplicons.

L'amplification d'une séquence d'ARN est également possible après transcription préalable de l'ARN en ADN complémentaire par une transcription inverse, c'est la RT-PCR. Des techniques alternatives et isothermes permettent également d'amplifier une séquence d'ARN, la NASBA, *Nucleic Acid Sequence Based Amplification* et la TMA, *Transcription Mediated Amplification*. Elles utilisent l'action combinée d'une transcriptase inverse, d'une ARN polymérase, et d'une RNase.

Une autre technique permet d'améliorer à la fois la sensibilité et la spécificité d'un test. Deux PCR successives sont effectuées avec deux couples d'amorces différents. Après la première PCR, le second couple d'amorces permet l'amplification du premier amplicon en s'hybridant à sa partie interne, c'est la PCR nichée ou *nested-PCR*.

Dans un même tube d'amplification, il est également possible d'amplifier simultanément plusieurs séquences cibles en utilisant plusieurs amorces spécifiques, c'est la PCR multiplex.

Figure 3.6 : PCR conventionnelle.



Quelles que soient les techniques utilisées, la lecture se fera par fluorescence sous rayonnement UV après migration des amplicons sur un gel d'agarose et l'utilisation d'un agent intercalant, le bromure d'éthidium ou BET.

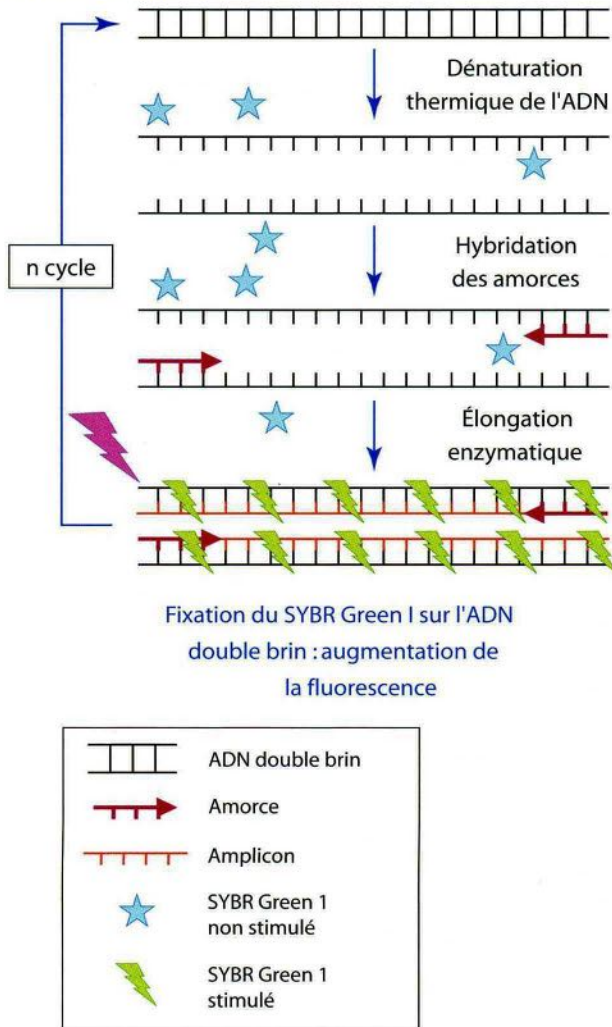
Après la PCR, il est possible de mettre en œuvre d'autres techniques (sondes nucléiques, digestion enzymatique suivie de l'analyse du profil de restriction...) ou de séquencer les amplicons.

D'autres méthodologies ont également été développées pour détecter des amplicons : la PCR-ELISA et ses variantes. Les amorces sont biotinylées afin d'obtenir après amplification génique des amplicons biotinylés qui seront immobilisés dans des plaques de microtitration recouvertes de streptavidine (choisie pour son affinité avec la biotine). La détection des amplicons se fait en utilisant une sonde spécifique marquée avec une molécule cible (digoxigénine par exemple). L'hybridation de la sonde est mise en évidence par un système immuno-enzymatique qui utilise un anticorps anti-digoxigénine conjugué à une enzyme de détection (peroxydase, phosphatase alcaline). Après ajout du substrat, la réaction colorimétrique est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque.

Une variante utilise le système de l'hybridation inverse. Dans ce cas, ce sont les sondes qui sont immobilisées. L'hybridation du produit de PCR biotinylé avec la sonde est détectée par l'addition d'un conjugué de type streptavidine/phosphatase alcaline suivie d'une révélation chromogénique.

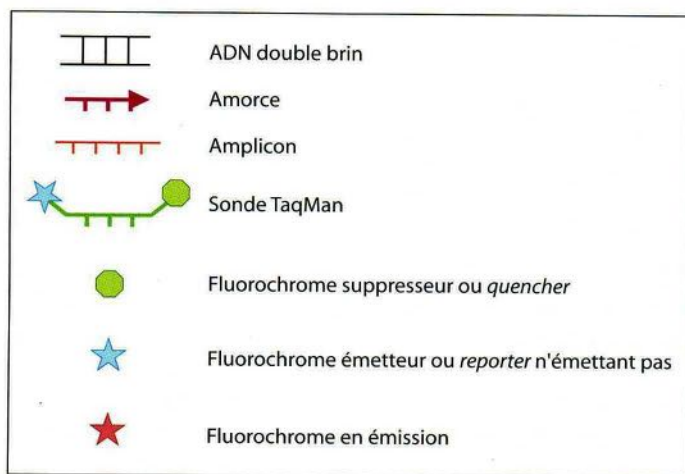
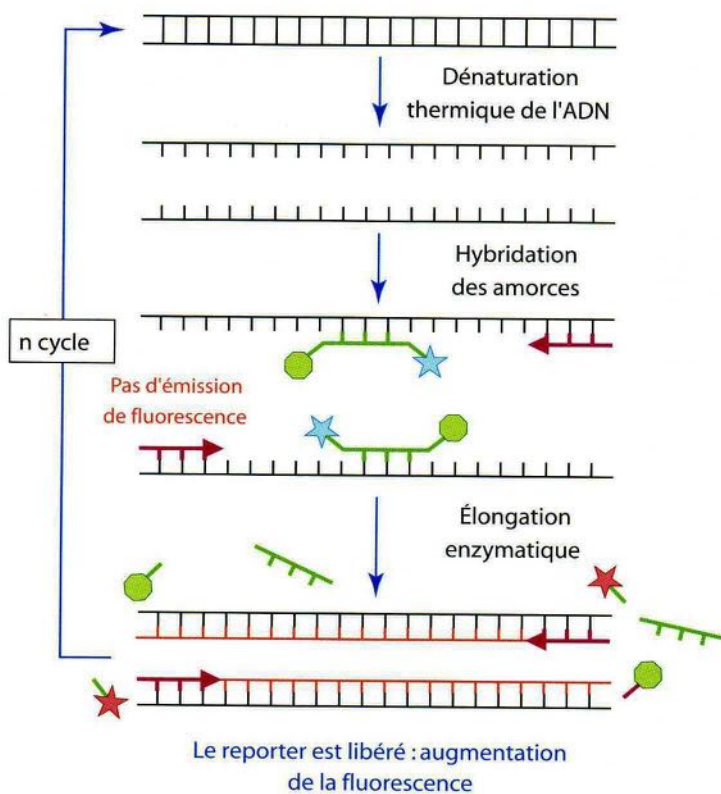
La PCR en temps réel permet de mesurer l'accumulation du produit de PCR à chaque cycle au cours de la réaction d'amplification. Le principe réside dans l'utilisation d'un marqueur fluorescent du

Figure 3.7 : PCR temps réel, technologie : SYBR Green I®.



produit de PCR. La réaction de PCR et la détection de son produit sont simultanées. Ainsi, le signal obtenu à chaque cycle est proportionnel à la quantité d'amplicons. La fluorescence peut être générée grâce à un marquage spécifique ou non. Le marquage non spécifique utilise des agents comme le SYBR Green 1 qui se lie à l'ADN bicaténaire (Figure 3.7). Durant l'étape d'élongation, l'agent intercalant se fixe sur l'ADN double brin, entraînant ainsi une augmentation de la fluorescence. L'émission décroît lorsque l'ADN est dénaturé à l'étape suivante. Les mesures sont effectuées à la fin de chaque cycle d'élongation. Cette méthode est économique, mais présente un grand inconvénient : elle est peu spécifique, car l'agent intercalant se fixe à n'importe quelle molécule d'ADN double brin y compris les produits non spécifiques. De plus, cette technologie ne peut pas être employée dans le cas de multiplexage (PCR multiplex).

Figure 3.8 : PCR temps réel, technologie : sonde TaqMan®.



Plusieurs méthodes permettent une détection spécifique du produit de PCR recherché. Parmi ces techniques, la technologie des sondes TaqMan utilise l'activité 5'exonucléasique de la Taq polymérase, activité spécifique de l'ADN double brin (Figure 3.8). La sonde TaqMan est une sonde spécifique marquée deux fois : par un fluorochrome suppresseur ou *quencher* situé en 3' et par un fluorochrome émetteur ou *reporter* situé en 5'. Lorsqu'il est stimulé, le *reporter* transfère son énergie au *quencher* qui dissipe cette énergie et aucune fluorescence n'est détectée. Lors de l'étape d'hybridation, les amorces et la sonde se fixent spécifiquement à leurs séquences complémentaires respectives. Au cours de l'élongation, la Taq polymérase dégrade la sonde hybridée qu'elle rencontre sur son passage et libère le *reporter* du *quencher*. La fluorescence associée au fluorochrome *reporter* ainsi mesurée est proportionnelle à la quantité de produit générée. Du fait de l'utilisation d'une sonde, la spécificité est accrue. Un multiplexage est possible dès lors que l'on utilise différents jeux de fluorochrome. Elle reste moins efficace et moins flexible pour la détection de mutation spécifique de type SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*.

Beaucoup d'autres méthodes sont utilisées : emploi de deux sondes linéaires spécifiques du produit de PCR dans la technique du FRET, *Fluorescence Resonance Energy Transfer*; emploi d'une sonde d'hybridation en épingle à cheveu appelée balise moléculaire ou *molecular beacon*; intégration irréversible durant l'amplification des fluorochromes et de la sonde dans la technique des amorces Scorpion.

Taxonomie phylogénétique et étude des marqueurs épidémiologiques

Les méthodes de référence utilisées en taxonomie reposent sur l'étude du génome, et plus particulièrement sur les études du GC% (étude du contenu du génome en guanine et cytosine), de l'hybridation ADN/ADN (études des homologies entre ADN et de la stabilité thermique de l'hétéroduplex, permettant la définition d'une *genomospecies*) et du séquençage (ARNr 16S, gènes de virulence...).

L'étude des marqueurs épidémiologiques permet de comparer les caractéristiques variables au sein d'une même espèce et utilise les méthodes d'analyse de l'ADN.

Électrophorèse en champ pulsé

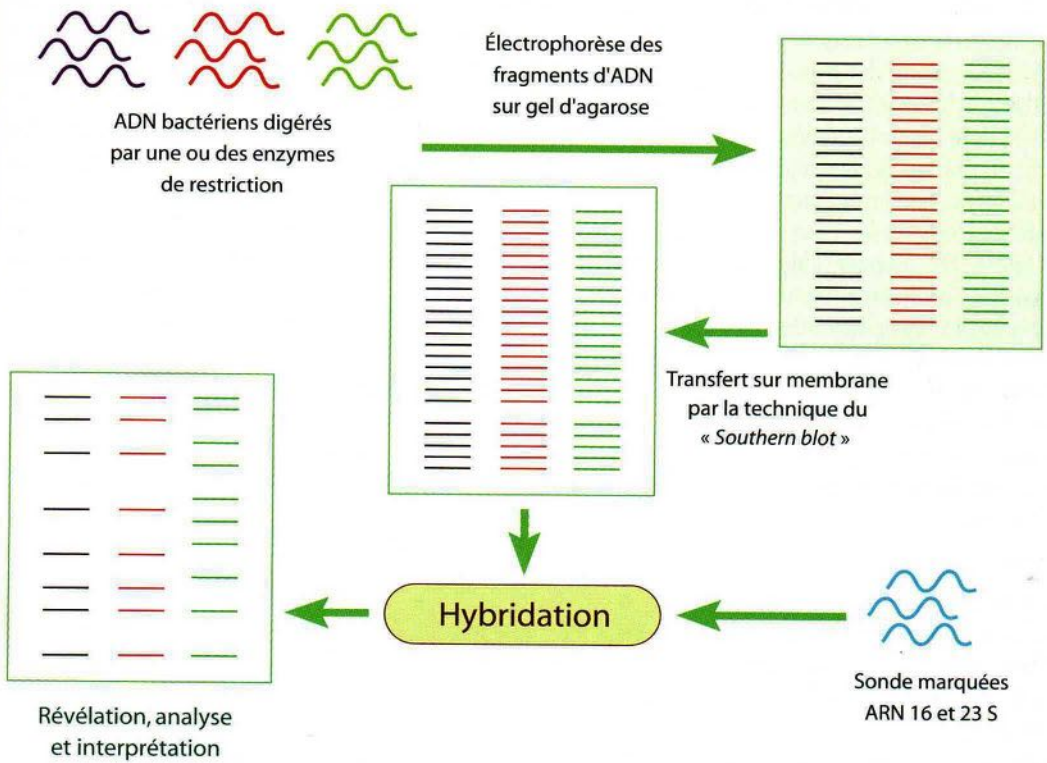
L'électrophorèse en champ pulsé ou PFGE, *Pulsed Filed Gel Electrophoresis* utilise des macro-fragments d'ADN (< 20 fragments) de 50 à 1 000 kb générés par la macro-restriction enzymatique de l'ADN total. Elle consiste à faire migrer et à séparer les macro-fragments d'ADN sur un gel d'électrophorèse en deux dimensions, grâce à deux champs électriques orientés suivant des angles différents et activés alternativement. Les gels sont ensuite colorés au BET et photographiés numériquement. Différents profils ou pulsotypes sont obtenus et sont facilement interprétables. Cette technique permet un bon marquage épidémiologique des souches. Ainsi, deux souches présentant deux bandes différentes peuvent être considérées comme étant deux souches différentes.

Étude du polymorphisme des fragments de restriction et ribotypage

L'étude du polymorphisme des fragments de restriction ou RFLP, *Restriction Fragment Length Polymorphism* consiste, après digestion de l'ADN chromosomique par une ou plusieurs enzymes de restriction, à séparer les fragments obtenus par électrophorèse sur gel d'agarose puis à les transférer sur une membrane de nitrocellulose ou de nylon par la technique de *Southern blot*. Le profil ainsi obtenu est révélé et visualisé à l'aide de sondes marquées, limitant ainsi le nombre de bandes à analyser et rendant par conséquent son interprétation plus aisée.

Le ribotypage est une variante de la technique de RFLP. Cette méthode utilise comme sonde marquée, les opérons contenant les gènes codant pour les ARNr (ARNr 16S et 23S) (Figure 3.9).

Figure 3.9 : le ribotypage.



Analyse de l'ADN après amplification génique

Plusieurs techniques ont été décrites pour analyser l'ADN après amplification génique par la méthode de PCR. Dans le cas du RAPD, *Random Amplified Polymorphic DNA*, et de l'AP-PCR, *Arbitrarily Primed PCR*, l'amplification des séquences se fait aléatoirement grâce à des amorces uniques ou multiples choisies arbitrairement. Les amplicons ainsi obtenus varient en longueur et en séquence. L'analyse par électrophorèse permet de définir des profils variables qui peuvent servir d'empreintes ADN.

Dans le cas de la PCR *ribotyping*, des amorces spécifiques des gènes codant les ARNr 16S et 23S sont utilisées. Cette méthode permet l'analyse des variations de longueur des séquences séparant les gènes codant l'ARN ribosomal.

Les techniques d'amplifications géniques peuvent également être combinées à d'autres méthodes comme la RFLP. Dans la technique de la PCR-RFLP, l'amplicon est généré à partir d'amorces spécifiques de régions conservées et encadrant une séquence variable. Après amplification, le polymorphisme est étudié par restriction puis électrophorèse sur un gel d'agarose.

Le séquençage

La détermination de la séquence d'un fragment d'ADN ou d'ARN utilise la technologie des marqueurs fluorescents multiples combinée à une analyse par gels hautement résolutifs ou par électrophorèse capillaire. La multiplication des programmes d'alignement et de comparaison de

séquences facilite la mise en œuvre de la technique. Le séquençage nucléotidique d'un *locus* unique est généralement utilisé en taxonomie (ARNr 16S, gène de la superoxyde dismutase pour les streptocoques et entérocoques).

La comparaison des séquences du gène *rrs* codant l'ARNr 16S permet de placer les bactéries dans un arbre phylogénétique unique. C'est actuellement le meilleur marqueur épidémiologique pour l'étude de la flore orale. Par définition, un groupe de souches ayant en commun 97 % à 99 % de leur ARNr 16S, forme un genre bactérien. Un groupe de souches ayant en commun plus de 99 % de leur ARNr 16S forme une espèce bactérienne. Un groupe de souches ayant en commun moins de 97 % de leur ARNr 16S avec les espèces connues forme potentiellement une espèce nouvelle. Le séquençage de l'ARNr 16S permet l'identification de bactéries mal identifiées par les méthodes biochimiques usuelles, ou même inconnues et non cultivables, en utilisant par exemple le logiciel BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/) et la base de données GenBank/EMBL. L'identification se fait à partir de souches isolées. En cas de mélange bactérien, les ARNr 16S des espèces inconnues sont amplifiés par PCR en utilisant des amorces provenant de séquences communes à un ou plusieurs phylums. Les gènes amplifiés doivent d'abord être insérés dans des clones différents avant d'être séquencés. La robotisation devrait permettre d'utiliser bientôt en routine le séquençage de plusieurs gènes.

L'analyse de plusieurs *loci*, comme le permet la MLST, *MultiLocus Sequence Typing* est utilisée en épidémiologie. Elle étudie les séquences des gènes codant les enzymes métaboliques et constitue une alternative génomique à la MLEE, *Multilocus Enzyme Electrophoresis*, en autorisant également la détection des mutations silencieuses et des mutations n'affectant pas la mobilité électrophorétique des enzymes.

Application des techniques de biologie moléculaire en odonto-stomatologie

Actuellement, dans le cadre de la pratique libérale en odonto-stomatologie, les tests diagnostiques reposant sur des techniques de biologie moléculaire ne sont proposés que par des laboratoires privés (Tableau 3.4). De plus, ces tests ne concernent que la parodontologie. Les recommandations issues du travail d'expertise collective de l'Inserm « *Maladie parodontale : thérapeutiques et préventions* » et de l'ANAES stipulent que le diagnostic moléculaire n'est pas de réalisation systématique et ne peut être proposé qu'en cas de parodontite agressive ou de parodontite réfractaire aux traitements. Le rôle du test devrait être soit de confirmer, soit d'infirmer une hypothèse diagnostique.

Dans ce cadre, le praticien n'effectue que le prélèvement, et l'accompagne de sa demande et d'un commentaire précisant entre autres le contexte clinique et le site de prélèvement. La méthodologie, pour le praticien, reste globalement identique pour tous les tests existant actuellement : après élimination du biofilm dentaire supra-gingival (plaque) et isolement du site, le prélèvement est effectué à l'aide de pointes en papier endodontiques laissées jusqu'à 20 secondes dans les poches parodontales. Ces pointes sont ensuite placées dans un tube stérile ou dans un tube contenant un milieu de transport. Il est recommandé de ne pas prélever d'échantillons de plaque dans les poches contenant du pus ou présentant un saignement important. En effet, la quantité d'ADN bactérien disponible serait considérablement réduite, ce qui pourrait engendrer un résultat faussement négatif. Après réception des prélèvements, le laboratoire fera l'extraction des acides nucléiques (ADN), suivie des manipulations nécessaires à l'identification des germes recherchés.

Un test de biologie moléculaire doit être d'utilisation aisée, facilement interprétable, reproductible et rapide. Il doit également avoir un important pouvoir discriminant. Le résultat obtenu dépend de ses performances, notamment en termes de sensibilité et de spécificité. Ainsi, il faudra tenir compte de l'éventualité d'un résultat faussement positif ou faussement négatif. Le tableau 3.5 résume les avan-

Tableau 3.4 : Liste des tests de biologie moléculaire disponibles en parodontologie, pour le praticien libéral en France.

Bactérie recherchée	Système (Nom du laboratoire)				Perio-Analyse® (Pierre Fabre Oral Care/Clinident)
	Micro-IDent®	Micro-IDent plus®	PMT®	Méridol Paro-Diagnostic	
	(Biocentric/HAIN)		(SGS/LabOral)	(Laboratoire GABA)	
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	+		+	+	+
<i>Campylobacter rectus</i>		+			+
<i>Capnocytophaga</i> sp. ^b		+			
<i>Eikenella corrodens</i>		+			
<i>Eubacterium nodatum</i>		+			+
<i>Fusobacterium nucleatum</i>		+			
<i>Micromonas micros</i> ^d		+	+	+	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+		+	+	+
<i>Prevotella intermedia</i>	+		+	+	+
<i>Tannerella forsythia</i> ^e	+		+	+	+
<i>Treponema denticola</i>	+		+	+	+
Charge bactérienne totale				+	+
Technologie/principe utilisé	PCR-ELISA/Multiplex Hybridation inverse (DNA-STRIP)		PCR-ELISA/Multiplex Recherche ARNr 16S	TaqMan/Multiplex	PCR et Puce à ADN, puis TaqMan/Multiplex Recherche ARNr 16S
	Semi-quantification		Semi-quantification	Recherche de séquences spécifiques	Quantification réelle
	En France, la société Biocentric dans le cadre du test libellé « Micro-IDent plus » recherche 11 bactéries (association du test « Micro-IDent » au test « Micro-IDent plus »).				

^a En France, la société Biocentric dans le cadre du test libellé « Micro-IDent plus » recherche 11 bactéries (association du test « Micro-IDent » au test « Micro-IDent plus »).

^b *Capnocytophaga* sp. correspond à : *C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*.

^c Correspond à *Fusobacterium nucleatum* et *Fusobacterium periodonticum*

^d Anciennement *Peptostreptococcus micros*.

^e Anciennement *Bacteroides forsythus*.

tages et les inconvénients du diagnostic moléculaire en odonto-stomatologie d'après les recommandations émises par l'Inserm et l'ANAES.

L'automatisation des systèmes et la standardisation des protocoles ont permis la mise au point de tests rapides (1 à 2 heures) réalisables par le praticien. Ces méthodes de diagnostic ne sont pas disponibles actuellement en France et utilisent le principe de l'hybridation de sondes nucléiques, c'est notamment le cas du *Periodontal Microbial Identification Test* de Saigene.

Tableau 3.5 : avantages et inconvénients du diagnostic moléculaire en odonto-stomatologie d'après les recommandations émises par l'Inserm et l'ANAES.

Avantages
✓ Spécificité maximale lorsque la sonde est convenablement sélectionnée
✓ Sensibilité de l'ordre de 10^{-3} avec des sondes marquées par radioéléments et de l'ordre de 10^{-4} avec un marquage non radioactif
✓ Utilisation de techniques d'amplification qui permettent d'abaisser le seuil de sensibilité à la présence de quelques bactéries cibles dans l'échantillon
✓ Rapidité, de l'ordre de 24 à 48 heures pour le test (1 semaine de délai pour le praticien)
✓ Détection de germes à croissance difficile
✓ Travail sur des échantillons non vivants (bactéries mortes)
✓ Simplicité et facilité à standardiser ou à automatiser
✓ Coût modéré
✓ Apport d'éléments d'information épidémiologique
Inconvénients
✓ Apparition de mutations dans les séquences cibles responsables de faux négatifs
✓ Faux positifs et faux négatifs selon les techniques et les sondes/amplicons utilisés
✓ Présence possible dans les échantillons cliniques d'inhibiteurs de réaction : faux négatifs
✓ Contamination des échantillons à analyser : faux positifs
✓ Maîtrise de la qualité des analyses
✓ Recherche ciblée de micro-organismes
✓ Impossibilité de connaître la sensibilité aux antibiotiques sans isolement
✓ Quantification partielle (sauf PCR temps réel où une quantification réelle est possible)

Plusieurs séquences génomiques de micro-organismes oraux sont actuellement disponibles et la liste s'allonge de jour en jour (Tableau 3.6). En odontologie, la technologie des puces à ADN permettra de détecter un très grand nombre de micro-organismes et d'analyser leur profil de virulence, mais également de mettre en évidence des mutations impliquées dans les pathologies réfractaires aux traitements ou résistantes aux agents antimicrobiens (sur la base du génotypage). Parallèlement, pour un patient donné, il sera possible d'identifier les facteurs génétiques prédisposant aux maladies carieuse et parodontale, ainsi que sa capacité à répondre au traitement. Toutefois, la présence d'un gène ne signifie pas que celui-ci s'exprime. Une analyse transcriptionnelle sera alors nécessaire. La mise au point de puces à ADN dans notre spécialité permettra peut-être de poser un diagnostic microbiologique étiologique des infections bucco-dentaires, dans un délai compatible avec la pratique clinique.

Une nouvelle approche utilise les progrès de l'industrie de l'électronique et de miniaturisation des systèmes : les laboratoires sur des puces ou « *lab-on-a-chip* ». Ainsi, sur une même micro-puce, il sera

possible, à partir de plusieurs échantillons, d'effectuer des PCR et/ou des hybridations. Un système de détection et d'analyse pourra également y être intégré. Par conséquent, des tests rapides (< 1 heure) d'identification des germes seront disponibles et facilement réalisables « au fauteuil » par le praticien.

Tableau 3.6 : liste des programmes de séquençage des micro-organismes oraux.

Génome ^a	Souche	Taille du génome (Mb)
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	HK1651	2,11
<i>Actinomyces naeslundii</i>	MG1	3
<i>Candida albicans</i>	SC5314	NC ^b
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATCC 25586	2,17 ^c
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATCC 10953	2,4
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	W83	2,34 ^c
<i>Prevotella intermedia</i>	17	2,8
<i>Streptococcus gordonii</i>	NCTC 7868	2,2
<i>Streptococcus mitis</i>	NCTC 12261	2,2
<i>Streptococcus mutans</i>	UA159	2,03 ^c
<i>Streptococcus sanguinis</i>	SK36	NC
<i>Streptococcus sobrinus</i>	6715	NC
<i>Tannerella forsythia</i> ^d	ATCC 43037	3,4
<i>Treponema denticola</i>	ATCC 35405	2,84 ^c

^a Les séquences sont accessibles à la communauté scientifique.

^b NC : Séquence incomplète à ce jour.

^c Séquence complète et annotée.

^d Anciennement *Bacteroides forsythus*.

Diagnostic virologique

Sérologique

Le diagnostic sérologique des infections virales a pour but de détecter des anticorps dirigés contre les protéines virales. Il est donc le reflet indirect de l'infection et n'est positif que lorsque les anticorps sont présents, c'est-à-dire après le délai de séroconversion. De même, il peut rester positif alors que le virus a été éliminé (immunité acquise durable) et l'infection résolue.

Les techniques de sérodiagnostic utilisent généralement le procédé ELISA, qui peut être complété par un immunoblot (Figure 3.10).

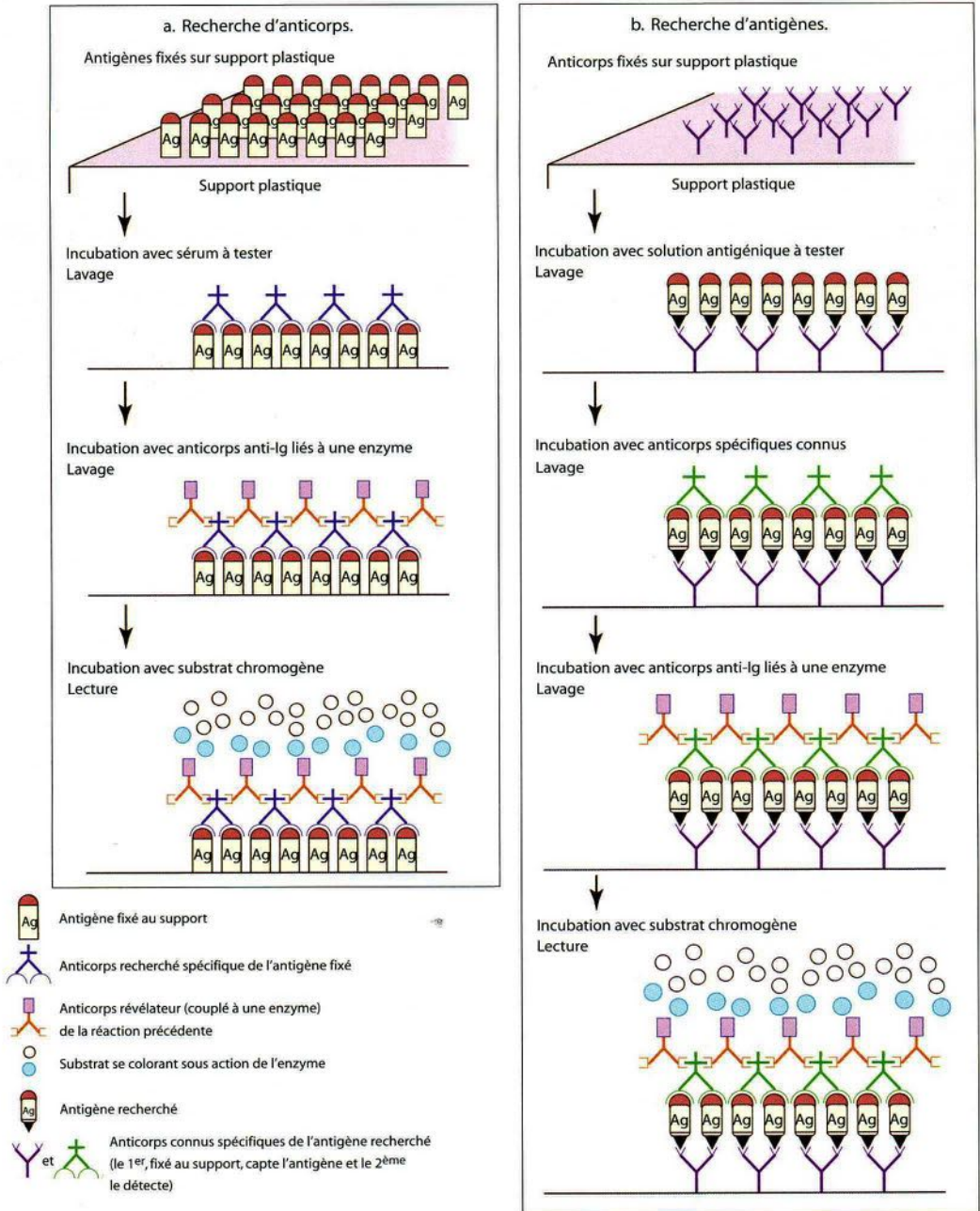
Virologique

Le diagnostic virologique a pour objectif la mise en évidence d'un virus donné chez un individu contaminé. Il reflète donc directement la contamination et l'activité virale. La détection des antigènes viraux (protéines) est généralement obtenue par une méthode ELISA sandwich (Figure 3.10), alors que la détection du génome viral requiert des méthodes d'amplification et de détection des acides nucléiques (PCR, RT-PCR... § Diagnostic moléculaire).

Les virus peuvent être cultivés dans des lignées de cellules eucaryotes (ensemencement du prélèvement pathologique). La multiplication virale se traduit généralement par un effet cytopathique visible au microscope optique inversé. Les cellules ainsi infectées peuvent également être colorées puis

examinées au microscope pour rechercher tout signe de multiplication virale. Un immuno-marquage du virus peut également être effectué.

Figure 3.10: schématisation des étapes successives d'une détection immuno-enzymatique pour la recherche d'anticorps (a) ou d'antigènes (b).



Références bibliographiques

- ANAES : *Parodontopathies : Diagnostic et traitements*. Rapport. Paris : ANDEM; mai 2002.
- Busse HJ, Denner ÉBM, Lubitz W : Classification and identification of bacteria : current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *J Biotechnol* 1996; 47 : 3-38.
- Conrads G : DNA probes and primers in dental practice. *Clin Infect Dis* 2002; 35 (Suppl 1) : S72-77.
- Duncan MJ : Genomics of oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14 : 175-187.
- Inserm : *Maladies parodontales. Thérapeutiques et prévention*. Paris : Inserm; 1999.
- Lucchini S, Thompson A, Hinton JCD : Microarrays for microbiologists. *Microbiology* 2001; 147 : 1403-1414.
- Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res* 2002; 30 : 1292-1305.
- Mackay IM : Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10 : 190-212.
- Olive DM, Bean P : Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol* 1999; 37 : 1661-1669.
- Verpoorte E : Microfluidic chips for clinical and forensic analysis. *Electrophoresis* 2002; 23 : 677-712.

L'odonte

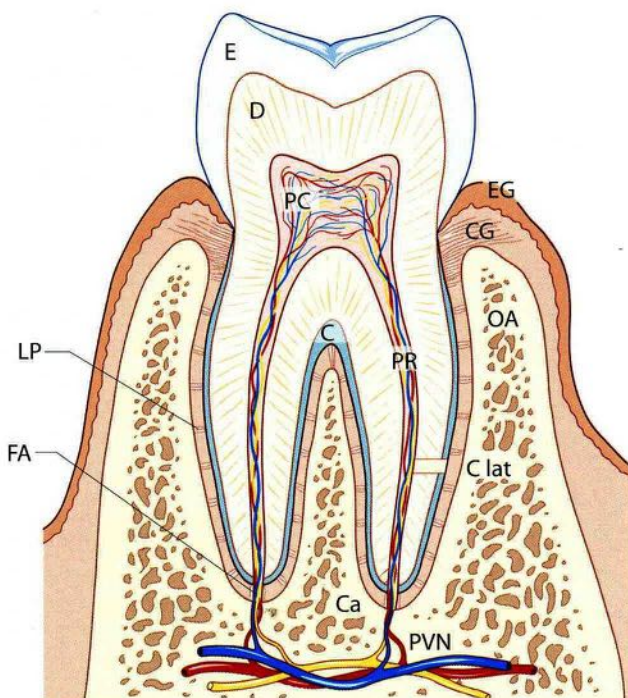
Microbiologie de la maladie carieuse

(O. Barsotti, V. Roger-Leroi, JJ. Morrier)

Définition

La maladie carieuse est une maladie infectieuse, polymicrobienne et multifactorielle. Cliniquement, elle se traduit par la lésion carieuse, c'est-à-dire la destruction progressive des tissus durs de la dent (émail, dentine, cément) par les bactéries cariogènes du biofilm dentaire (Figure 3.11). Le terme de carie désigne la maladie carieuse ou la lésion carieuse.

Figure 3.11 : odonte et parodonte. E = émail; D = dentine; PC = pulpe camérale; PR = pulpe radulaire; LP = ligament parodontal; C = cément; FA = foramen apical; PVN = plexus vasculo-nerveux; OA = os alvéolaire; EG = épithélium gingival; CG = conjonctif gingival; Ca = canaux apicaux; C lat = canaux latéraux.



L'émail et la dentine

L'émail

L'émail recouvre la couronne de la dent (2 mm à 2,5 mm au sommet des cuspidés ou au bord incisif) et protège la dentine du milieu extérieur. C'est le tissu le plus dur de l'organisme car le plus minéralisé.

Il est composé de 97 à 98 % de minéral, d'une matrice organique et d'un peu d'eau. La phase minérale est essentiellement constituée de cristaux d'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ et contient également des ions carbonates (CO_3). Les ions fluor peuvent s'incorporer au cristal en se liant ou en se substituant aux ions hydroxyles formant ainsi des cristaux de fluoroapatite. De nombreux autres ions (Na, Mg, K, Cl, S, Zn...) sont présents en quantités minimales. La matrice organique est composée d'environ 60 % de protéines (tuftéline, améloblastine, énaméline) et de 40 % de lipides (phospholipides et phosphoprotéolipides).

L'émail est translucide lorsqu'il est parfaitement minéralisé, et sa surface est lisse et brillante. L'absence ou la perte de la brillance, la présence d'opacités blanchâtres, sont le signe d'un émail faiblement minéralisé ou en voie de déminéralisation.

Des modifications de structure de l'émail (hypoplasie, hypominéralisation, dyscoloration) peuvent se produire si certains événements surviennent au cours de l'amélogenèse : traumatismes, intoxications exogènes ioniques (fluoroses) ou médicamenteuses (tétracyclines), pathologies infectieuses locales (pulpopathies d'une dent temporaire survenant pendant l'amélogenèse de la dent permanente sous-jacente) ou générales (infections virales), pathologies génétiques (amélogenèse imparfaite). La structure de l'émail peut également être modifiée après l'éruption de la dent par des changements du pH buccal (dépendant des propriétés de la salive et des habitudes alimentaires), par des lésions d'origine traumatique (stries dues au brossage, facettes d'usure dues au bruxisme), ou par attaque acide des cristaux d'émail (caries).

La dentine

La dentine est le tissu minéralisé dentaire quantitativement le plus important. Sa surface externe est en contact avec l'émail au niveau de la couronne et avec le cément au niveau de la racine. Sa surface interne est en contact avec les odontoblastes de la pulpe dentaire. Les odontoblastes sont à l'origine de la formation de la dentine. Celle-ci débute dès la différenciation des premiers odontoblastes dans les germes dentaires et se poursuit aux dépens du volume pulpaire tout au long de la vie.

La dentine est composée de 70 % de minéral, de 10 % d'eau et de 20 % de matrice organique. Elle se minéralise de plus en plus au cours de la vie.

La phase minérale de la dentine est composée essentiellement de cristaux d'hydroxyapatite. La dentine contient également des phosphates de calcium amorphes ainsi que divers ions (carbonates, sulfates), dont certains à l'état de traces (F, Mg, Na, Cl...). La plus grande partie de l'eau est présente dans les prolongements odontoblastiques ou sous forme d'eau libre dans les tubules. La matrice organique est composée principalement de collagène de type I (85 %) et de type V (3 %). Le reste de la matrice dentinaire est formé par des protéines non-collagéniques : glycoprotéines (ostéonectine, ostéopontine, sialoprotéines), phosphoprotéines (phosphoprotéine dentinaire, protéine matricielle dentinaire DMP-1) et protéoglycanes (décorine, biglycane). On trouve également des lipides (phospholipides, cholestérol et triacylglycérols). La dentine contient aussi des protéines sériques (albumine, glycoprotéine alpha-2HS) et des facteurs de croissance (TGF- β , BMP, IGF I et II, PDGF, FGF, VEGF). Des amélogénines de faible poids moléculaire sont également présentes dans la dentine périphérique.

La dentine est de couleur jaunâtre. Elle comprend une couche superficielle externe de faible épaisseur, le manteau dentinaire, qui recouvre une couche de dentine épaisse, la dentine circumpulpaire (ou péripulpaire). La dentine circumpulpaire est elle-même constituée de trois éléments : les tubules contenant les prolongements odontoblastiques, la dentine péritubulaire et la dentine intertubulaire. La dentine circumpulpaire est formée de la dentine primaire, qui est élaborée jusqu'à la formation de l'apex, et de la dentine secondaire, qui se forme tout au long de la vie. En cas d'agression pathologique (carie, abrasion) ou thérapeutique (fraisage intempestif), une dentine tertiaire va être produite qui comprend la dentine réactionnelle et la dentine réparatrice.

Au cours de la vie de la dent, la dentine subit principalement des phénomènes d'apposition et de résorption qui ont lieu soit dans des conditions physiologiques, soit en réaction à des phénomènes traumatiques, pathologiques ou thérapeutiques.

Manifestations cliniques

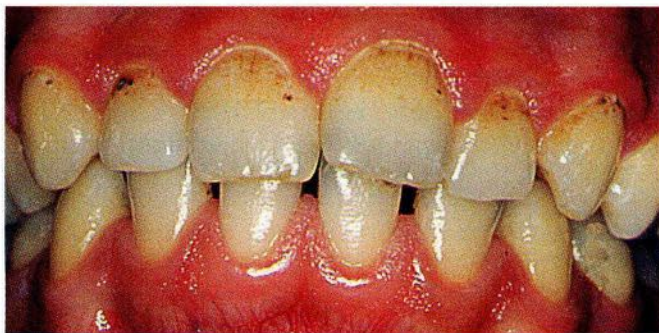
Les lésions carieuses vont se développer chez les individus où le biofilm aura le temps de se développer et d'arriver à maturation donc dans des sites difficilement accessibles à l'hygiène et à l'auto-nettoyage par la mastication (faces occlusales des dents en éruption, sillons des prémolaires et molaires, faces proximales sous le point de contact et le long du bord marginal gingival). Les caries coronaires touchent surtout le sujet jeune, alors que les caries radiculaires se développent principalement chez le sujet âgé présentant des récessions gingivales. Il faut distinguer chronologiquement les lésions amélaire et cémentaires (lésions initiales) des lésions dentinaires, touchant les tissus durs plus profonds de la dent, sans toutefois atteindre la pulpe. Ces lésions peuvent être à progression rapide (lésion carieuse active = phase aiguë de la maladie) ou lente (lésion carieuse inactive = phase chronique de la maladie).

Cliniquement, la carie de l'émail à progression rapide se présente sous la forme d'une petite tache blanche (*white spot*), crayeuse, parfois grise ou jaunâtre (Figure 3.12). Le plus souvent la carie de l'émail s'étend vers la dentine. Toutefois, si les facteurs pathogènes sont éliminés (plaque dentaire minimale), la progression carieuse s'arrête (carie arrêtée) ou du moins est ralentie (lésion à évolution lente). La lésion carieuse inactive se caractérise par une irrégularité de la surface amélaire, ou une cavité peu profonde, avec un émail sombre relativement brillant. L'émail se reminéralise et retrouve sa translucidité, ou bien la tache crayeuse se transforme en tache brune (*brown spot*) (Figure 3.13). Cette coloration brune provient d'un dépôt organique de composants d'origines bactérienne, salivaire ou alimentaire dans les zones déminéralisées de l'émail.

Figure 3.12 : carie de l'émail à progression rapide (→ *white spot*) (cas clinique Dr J.J. Aknin - Lyon).



Figure 3.13 : lésion carieuse inactive de l'émail (brown spot)
(cas clinique Dr O. Barsotti - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Les caries cémentaires comprennent aussi des lésions actives de couleur jaune ou brun clair, recouvertes en général par un biofilm bactérien assez dense, et des lésions arrêtées de couleur brun foncé ou noire (Figures 3.14a et b). Ces dernières ont souvent des surfaces lisses et dures, semblables aux lésions d'érosion de type myolyses (érosions cervicales) ou lacunes cunéiformes, qui elles ne sont pas d'origine bactérienne (Figure 3.14c). L'interrogatoire du patient sur son état physiologique (régurgitations acides lors d'une grossesse), ses pathologies éventuelles (reflux gastro-œsophagien, vomissements acides lors de boulimie, d'anorexie, médicaments acides) et ses habitudes de vie (boissons acides, brossage horizontal avec un dentifrice trop abrasif) permettent de faire le diagnostic différentiel.

Figure 3.14 : a) Lésion cémentaire active recouverte par un biofilm dense.
b) Lésions cémentaires arrêtées de couleur noire.
c) Érosions cervicales de type myolyse (cas cliniques Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



a



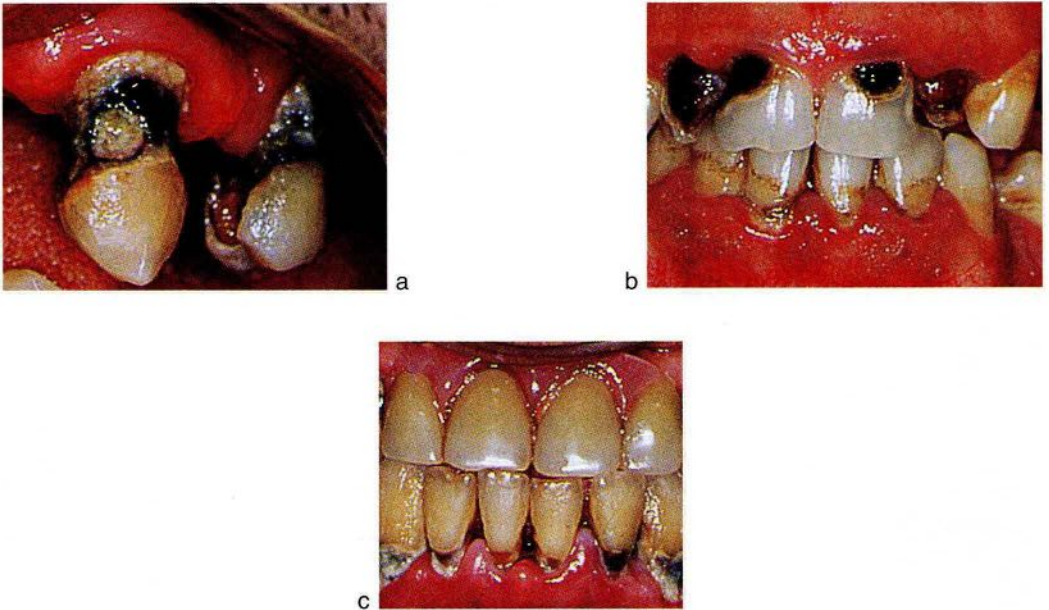
b



c

Les caries dentinaires font suite à une altération de l'émail ou du ciment. Elles peuvent être à progression rapide avec souvent une coloration blanche, crayeuse, de l'émail qui surplombe la cavité. Une coloration jaunâtre, voire noirâtre cerne parfois la lésion (Figure 3.15a). Elles peuvent aussi être à progression lente, parfois arrêtées avec une dentine brunâtre relativement dure, si les facteurs d'agression sont présents en faible quantité ou éliminés (Figures 3.15b et c). La destruction plus ou moins importante de la dentine s'accompagne parfois de douleurs dues à la stimulation directe ou indirecte (mouvement du fluide dentinaire) des fibres nerveuses intradentaires et intrapulpaires.

Figure 3.15 : caries dentinaires. a) Caries coronaire et radiculaire à progression rapide.
b) Caries coronaires à progression lente sur les 2 incisives centrales.
c) Caries radiculaires à progression lente sur les 2 incisives centrales (cas cliniques Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Pathogénie

Le processus carieux est un processus dynamique complexe qui dépend de l'équilibre entre les facteurs d'agression des bactéries cariogènes du biofilm dentaire, influencés par l'alimentation, et les défenses de l'hôte. L'évolution de la lésion clinique est donc variable (lésion carieuse active $\longleftrightarrow$ inactive), selon les individus, et chez un même sujet, en fonction de son âge, de son état général et de ses habitudes de vie (alimentation, hygiène buccale).

La lésion carieuse est la conséquence de la déminéralisation des tissus durs de la dent et de la dégradation de la matrice organique de ces tissus. L'acidogenèse est le mécanisme pathogénique responsable de la solubilisation des cristaux d'hydroxyapatite (HA), composants minéraux de l'émail, de la dentine et du ciment. Les acides sont produits par les bactéries acidogènes de la plaque dentaire, lors du métabolisme des sucres fermentescibles de l'alimentation. Contrairement à l'émail, le ciment et la

dentine ont une trame organique importante et leur dégradation nécessite la présence de micro-organismes ayant des activités protéolytiques et peptidolytiques.

Métabolisme des glucides de l'alimentation et origine des acides bactériens

Les bactéries cariogènes de la plaque, essentiellement les streptocoques mutans, les actinomyces et les lactobacilles, sont acidogènes. Elles peuvent métaboliser les glucides fermentescibles de l'alimentation (Tableau 3.7), et produire des acides (Figures 3.16a et b). Elles utilisent directement la plupart des monosaccharides (glucose, fructose) et des disaccharides (saccharose et lactose). Les amidons sont d'abord transformés en maltose et en glucose par l'amylase salivaire.

Tableau 3.7 : principaux glucides fermentescibles de l'alimentation.

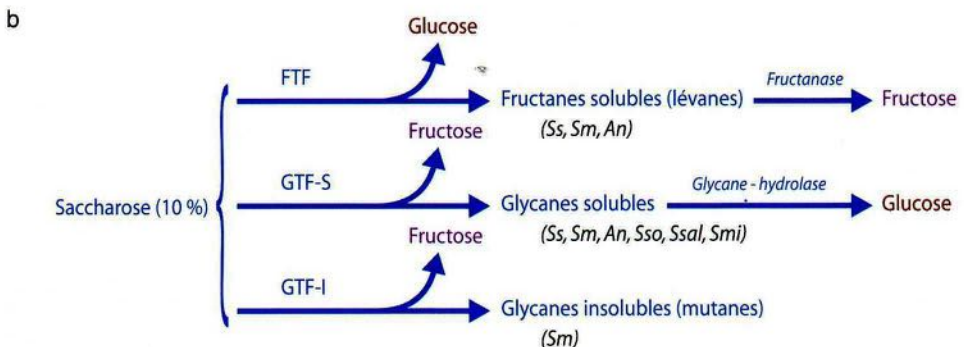
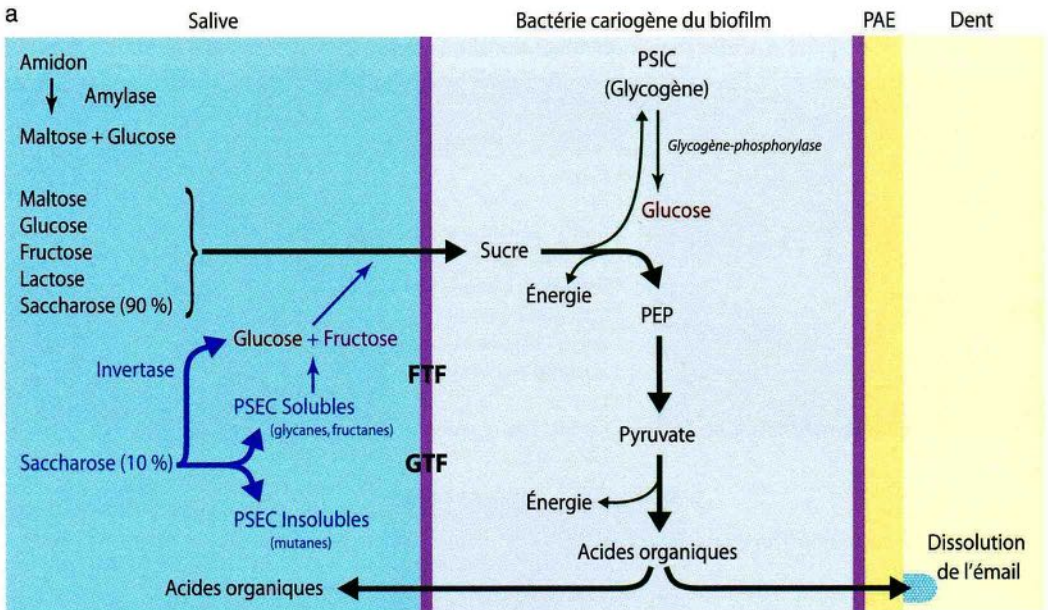
Type de glucide	Type d'aliment
GLUCOSE	Confiserie Blé Fruits : bananes, melons Boissons sucrées Légumes : oignons, choux
FRUCTOSE	Gâteaux, miel Fruits : bananes, oranges, poires Boissons aux fruits
LACTOSE Composé de glucose et de galactose	Lait Crème, crème glacée Flans au lait Yaourts
SACCHAROSE Composé de glucose et de fructose	Gâteaux, biscuits, confiseries, bonbons, chocolat Céréales du petit-déjeuner Fruits : raisins, dattes Boissons sucrées Sucre de table : blanc et brun Légumes : carottes, betteraves, canne à sucre, avocat
AMIDON CUIT ^a Chaînes de glucose	Farine, semoule, céréales Pain, biscottes Biscuits, gâteaux, pâtisseries Pommes de terre, Riz, Pâtes Légumineuses

Transport intracellulaire des glucides

Les glucides pénètrent dans la bactérie par deux principaux mécanismes de transport selon les conditions environnementales :

- un système de transport actif (système force motrice par protons) lorsque les glucides de l'alimentation sont abondants. Il nécessite des protéines de transport (perméases) et de l'ATP (adénosine triphosphate) fournit par la glycolyse ;
- un système phosphotransférase (système PTS), s'il y a pénurie de glucides, une croissance bactérienne faible et un pH neutre. Le sucre est relâché à l'intérieur sous forme sucre-phosphate. L'énergie nécessaire et le phosphate viennent du phospho-énol-pyruvate (PEP), métabolite intermédiaire de la glycolyse. Le système PTS est le principal système de transport du glucose, du saccharose, du

Figure 3.16 : a) Représentation schématique du métabolisme des glucides de l'alimentation et de l'origine des acides bactériens. PAE : pellicule acquise exogène; PSEC : polysaccharides extracellulaires; PSIC : polysaccharides intracellulaires; FTF : fructosyltransférase; GTF : glycosyltransférase; PEP : phospho-énol-pyruvate.
b) Représentation schématique du métabolisme du saccharose. FTF : fructosyltransférase; GTF-S : glycosyltransférase - soluble; GTF-I : glycosyltransférase - insoluble; Ss : Streptococcus sanguinis; Sm : Streptococcus mutans; Sso : Streptococcus sobrinus; Ssal : Streptococcus salivarius; Smi : Streptococcus mitis; An : Actinomyces naeslundii.



mannose, du fructose, du lactose et du maltose chez les streptocoques et les lactobacilles, alors que chez les actinomyces l'activité phosphotransférase est faible.

De nombreux streptocoques du groupe mutans possèdent, en plus du système PTS, un système de transport métabolisme multisucres (Msm), leur permettant de faire entrer dans la cellule bactérienne des sucres plus rares (mélibiose, raffinose, isomaltoses) que les oses communs. Le système Msm semble impliqué dans le transport intracellulaire des résidus de dégradation des polymères extracellulaires solubles en période de disette.

Devenir des glucides intracellulaires

Dès que le glucide est à l'intérieur de la cellule bactérienne, il est :

- soit immédiatement métabolisé par la voie de la glycolyse (Embden Meyerhof) afin de fournir de l'énergie à la bactérie. Les produits terminaux (acides lactique, butyrique, acétique, propionique et éthanol) résultant du catabolisme de ces glucides par la plaque sont variés du fait de la présence d'espèces bactériennes différentes. Leur proportion dépend de la quantité de sucres disponibles et de la pression en oxygène;
- soit mis en réserve sous forme de polysaccharides intracellulaires, généralement de type glycogène. Les micro-organismes de la plaque, en particulier *S. mutans*, ne transforment pas en acides la totalité des sucres disponibles, surtout s'ils se trouvent en excès. Ces polysaccharides servent de réserve intracellulaire énergétique qui pourra être utilisée en cas d'absence de sucres exogènes. En effet, leur dépolymérisation, grâce à une glycogène-phosphorylase, libère des molécules de glucose qui, catabolisées par la voie glycolytique produisent de l'énergie et des résidus acides. Ainsi, il y a production prolongée d'acides, même en l'absence de consommation d'aliments sucrés, et mise en place d'une pression écologique sélective en faveur des bactéries aciduriques. Chez l'homme, le nombre de caries serait proportionnel à la teneur de la plaque dentaire en polysaccharides intracellulaires.

Un glucide particulier : le saccharose

Le saccharose représente le sucre de l'alimentation le plus redoutable car il peut être métabolisé de différentes façons par les bactéries de la plaque, en particulier par les streptocoques et les actinomyces (Figure 3.16b). 90 % du saccharose pénètrent à l'intérieur de la bactérie et 10 % restent à l'extérieur. Il peut, grâce à une invertase, être scindé en glucose et fructose, qui seront ensuite transformés en acide lactique par la voie glycolytique. Il permet également la biosynthèse de polysaccharides extracellulaires. Cette biosynthèse est catalysée par des enzymes liées à la paroi bactérienne : les glycosyltransférases (GTF) pour la synthèse des polymères du glucose et les fructosyltransférases (FTF) pour la synthèse des polymères du fructose. Ces polysaccharides extracellulaires sont assemblés et stockés à l'extérieur des cellules bactériennes. Il existe trois types de polysaccharides extracellulaires :

- les glycanes insolubles, appelés mutanes, car ils sont surtout synthétisés par *S. mutans*, sont des polymères de glucose à liaisons principales α ($1 \rightarrow 3$) et secondaires α ($1 \rightarrow 6$). Leur biosynthèse à partir du saccharose de l'alimentation est catalysée par la GTF-I. Ils constituent un facteur de virulence important des streptocoques mutans car ils jouent un rôle prépondérant dans la cohésion des bactéries entre elles et leur adhérence à la surface de l'émail, ils maintiennent les acides bactériens près de la surface dentaire, et empêchent la salive de pénétrer et de neutraliser ces acides;
- les glycanes solubles, parfois appelés dextrans, sont des polymères de glucose à liaisons principales α ($1 \rightarrow 6$) et secondaires α ($1 \rightarrow 3$). Ils sont synthétisés par *S. mutans*, *S. sanguinis*, quelques souches de *S. mitis* et de *S. salivarius* à partir du saccharose de l'alimentation, et catalysés par la GTF-S. Ces polysaccharides constituent une réserve énergétique extracellulaire. En effet, de nombreuses

- bactéries de la plaque dentaire produisent des enzymes inductibles, les glycane-hydrolases, capables d'hydrolyser ces glycanes solubles, libérant ainsi des molécules de glucose. Le glucose est transporté dans la cellule et catabolisé à des fins énergétiques par glycolyse intracellulaire, avec libération d'acides;
- les fructanes sont des molécules hydrosolubles, homopolymères de fructoses à liaisons glycosidiques de configuration β ($2 \rightarrow 6$) type lévane ou β ($1 \rightarrow 2$) type inuline. La biosynthèse de ces polyfructoses se fait à partir du saccharose, mais la réaction est catalysée par des fructosyltransférases (FTF). Ils constituent également une réserve énergétique extracellulaire facilement utilisable. En absence de glucides fermentescibles exogènes, il y a induction chez les *S. mutans* d'une fructanase qui hydrolyse les fructanes en fructose libre qui à son tour peut être catabolisé, à des fins énergétiques, par glycolyse intracellulaire avec libération d'acides. Les fructanes contribuent à la survie des micro-organismes de la plaque dentaire en période de disette, mais aussi au maintien d'un environnement acide.

Ainsi, lorsque les glucides de l'alimentation diminuent, les bactéries peuvent encore produire des acides par l'hydrolyse des polysaccharides intra ou extracellulaires.

Déminéralisation des tissus durs

Tous ces acides sont responsables de la déminéralisation des tissus durs dentaires. Toutefois, l'acide lactique, principalement produit lorsque l'alimentation est riche en glucides, est le plus déminéralisant. Dans les périodes de pénurie de sucre (diète ou période nocturne), les acides faibles, peu déminéralisants, sont surtout retrouvés. La plupart des bactéries du biofilm dentaire sont capables de fermenter les sucres en acides faibles, mais seulement certaines espèces (*A. naeslundii*, *S. sanguinis*) résistent à la baisse du pH que cela engendre. Par contre, les streptocoques du groupe mutans et les lactobacilles sont capables de produire des acides forts (acide lactique) et de survivre à un environnement très acide.

La lésion amélaire initiale

La carie de l'émail débute par une déminéralisation de l'émail de surface lorsque le pH du biofilm dentaire atteint une valeur critique (5,3 - 5,5). Les ions acides (H^+), qui ont pénétré profondément à travers les structures de l'émail de surface, entraînent la dissolution du calcium et du phosphate dans la structure cristalline de l'hydroxyapatite (HA). Le biofilm et la salive seaturent alors progressivement en ions calcium et phosphate. Le pH remonte, aidé par le pouvoir tampon de la salive. Les ions calcium et phosphates regagnent l'émail et précipitent, favorisant la reminéralisation de la surface de l'émail. La lésion se développe en dessous d'une surface d'émail résistante aux acides, car, en contact permanent avec la salive, elle est très minéralisée et avec une forte teneur en fluor. La PAE, barrière semi-perméable, retarderait la déminéralisation et servirait de réservoir aux ions phosphates, calcium et fluor. La zone de subsurface déminéralisée atteint souvent la dentine avant qu'une tache blanche (*white spot*) n'apparaisse sur l'émail. Même si la phase de déminéralisation de subsurface est intensive, le processus peut s'inverser si les facteurs d'agression diminuent ou disparaissent (voir chapitre étiologie).

La lésion cémentaire initiale

La lésion cémentaire initiale présente très souvent une zone superficielle hyperminéralisée provenant de la précipitation des sels minéraux salivaires (phosphates et calcium) incorporés dans la PAE déposée à la surface du ciment radiculaire. L'invasion bactérienne est postérieure à la destruction des cristaux d'HA. Le processus de destruction est progressif et simultané pour la composante minérale et organique du ciment acellulaire.

La lésion dentinaire

La carie progresse plus rapidement dans la dentine que dans l'émail, car c'est un tissu moins minéralisé, et perméable à cause des milliers de tubules qui le traversent. De plus, contrairement aux surfaces amélaire, les surfaces dentinaires ne sont pas en contact permanent avec la salive, qui peut neutraliser les acides bactériens, et sont peu accessibles au brossage, ce qui favorise le développement du biofilm dentaire.

Le processus de destruction des dentines coronaires et radiculaires est similaire. Les micro-organismes atteignent la dentine après invasion de l'émail ou du ciment. La déminéralisation des cristaux d'HA de la dentine péritubulaire, puis intertubulaire par les acides bactériens aboutit à un élargissement des tubules. La trame organique (collagène, protéines non collagéniques...) est alors détruite par l'action d'enzymes bactériens (hyaluronidase, collagénase) et d'enzymes présents dans la dentine et libérés par la déminéralisation comme les métalloprotéases matricielles (MMP-2 et MMP-20 notamment). À ce stade, soit il y a atteinte pulpaire, soit il y a reminéralisation des tubules et formation d'une dentine réactionnelle, sorte de barrière biologique s'opposant à l'entrée dans la pulpe des micro-organismes et de leurs toxines et acides.

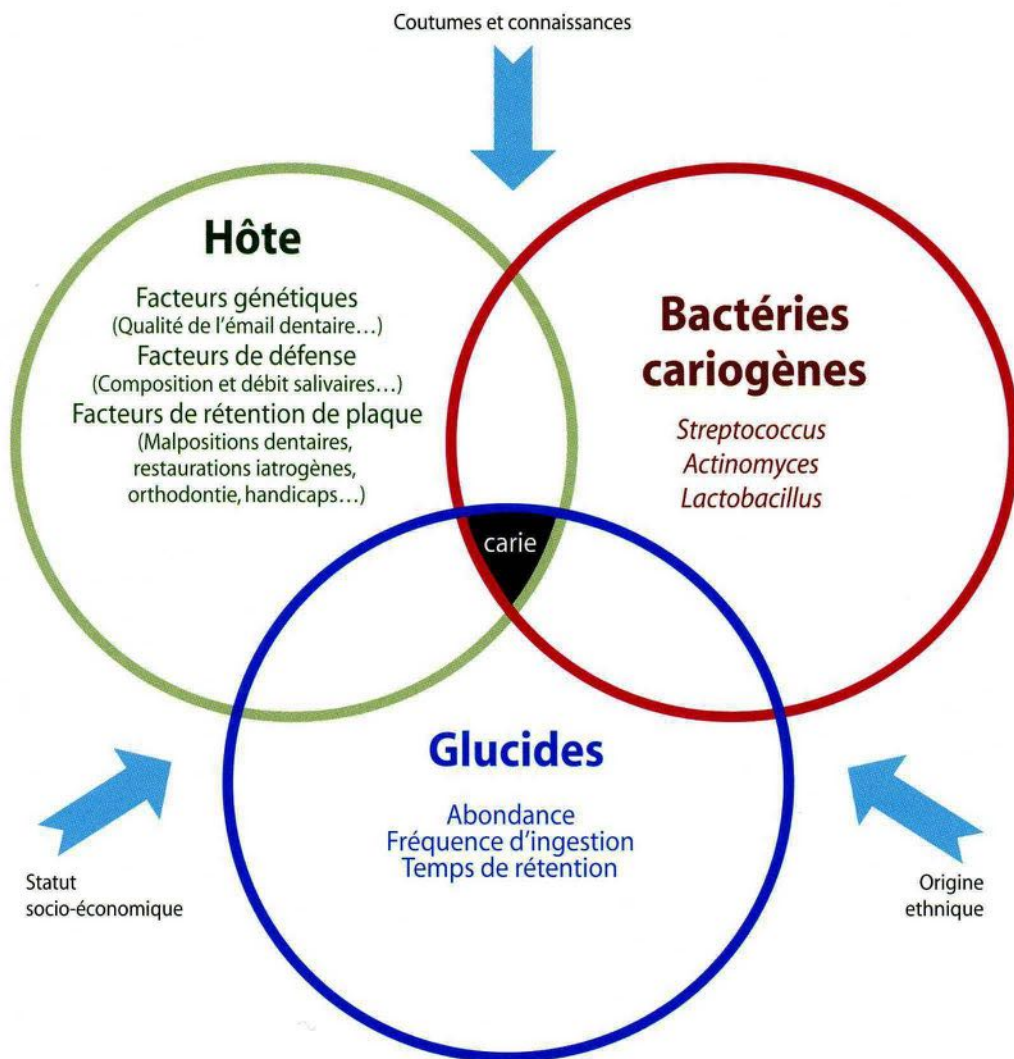
L'intégrité des surfaces dentaires dépend de l'équilibre entre la déminéralisation et la reminéralisation de ces surfaces. Ces phénomènes de déminéralisation-reminéralisation s'effectuent de la même façon pour l'émail, le ciment et la dentine. Normalement les acides sont progressivement éliminés/dilués par le flux salivaire, ou neutralisés par le pouvoir tampon du milieu environnant (carbonates et phosphates salivaires, amines et ammoniac issus du métabolisme alcalin de certaines espèces bactériennes). La salive, sursaturée en calcium et phosphates, participe à la reminéralisation de la dent, si le pH près des cristaux d'HA devient neutre ou basique. Certaines espèces bactériennes (*Veillonella*, *Propionibacterium*, *Clostridium* et *Eubacterium*) contribuent également à remonter le pH, en transformant des acides forts tels que l'acide lactique, produit par *S. mutans*, en acides plus faibles (acides acétique et propionique). De plus, la présence de substances bactériostatiques et bactéricides (lysozyme, lactoferrine, lactopéroxydase, bactériocines) dans les fluides buccaux nuit à la croissance bactérienne ou élimine les bactéries.

Si les facteurs pathogènes persistent à la surface de l'émail ou du ciment, il y a effondrement de la couche superficielle avec formation d'une cavité. C'est l'étape critique et irréversible du processus carieux. Si ces facteurs disparaissent ou diminuent la lésion passe à la chronicité.

Étiologie bactérienne de la carie dentaire

L'étiologie de la carie est multifactorielle et très complexe puisqu'elle varie en fonction d'un nombre considérable de facteurs biologiques. Elle résulte de l'interaction entre l'hôte (dents, composition et débit salivaires...), la flore bactérienne buccale (composition du biofilm, principalement présence des espèces bactériennes cariogènes, métabolisme bactérien), les habitudes alimentaires (ingestion importante et fréquente de glucides fermentescibles) et d'autres facteurs qui ne sont pas encore connus (Figure 3.17). En outre, que ce soit à l'échelle de l'individu ou à l'échelle d'une population donnée, le phénomène est fortement influencé par le statut socio-économique, l'origine ethnique, les coutumes et les connaissances. C'est pourquoi, aujourd'hui encore, aucun modèle qui tend à prédire, et donc à prévenir le développement de lésions carieuses, n'est véritablement fiable.

Figure 3.17 : étiologie de la maladie carieuse.



Les micro-organismes cariogènes

L'implication bactérienne dans le processus carieux a été mise en évidence par Miller en 1890. Ses travaux sur les micro-organismes buccaux ont démontré d'une part la fermentation des sucres de l'alimentation par les bactéries et, d'autre part, la dissolution de l'émail et de la dentine par les acides produits.

Une partie de la flore commensale buccale se dépose sur les dents créant un biofilm (§ partie 2, chapitre 1). Le déséquilibre de l'écosystème buccal entraîne la modification de ce biofilm et la prolifération de bactéries cariogènes, qui exercent alors leur pouvoir pathogène. La carie serait donc

une infection opportuniste créée par les micro-organismes endogènes de l'hôte. Des facteurs locaux semblent jouer un rôle important dans l'équilibre de l'écosystème qu'ils soient microbiens (= interactions bactériennes) ou amicrobiens (= consommation importante et fréquente de sucres par exemple).

Les micro-organismes impliqués sont des bactéries très acidogènes et acidotolérantes mais également des bactéries possédant des activités protéolytiques et peptidolytiques. Un grand nombre d'espèces bactériennes est retrouvé dans les caries profondes et les caries radiculaires (Tableau 3.8). Toutefois,

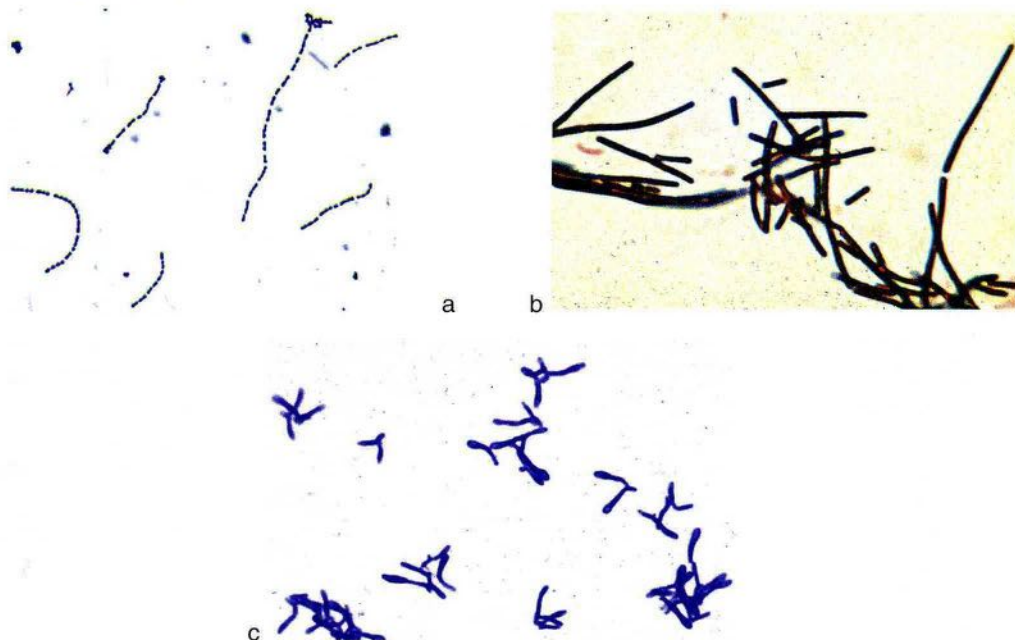
Tableau 3.8 : flore associée aux caries.

Pathologies	Gram+		Gram-	
	Aérobies et anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts	Aérobies et anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts
Dentine cariée profonde	Bacilles <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Lactobacillus</i> (<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>) <i>Rothia dentocariosa</i>	Bacilles <i>Actinomyces</i> (<i>A. israelii</i> , <i>A. odontolyticus</i>), <i>Bifidobacterium</i> (<i>B. bifidum</i> , <i>B. dentium</i>), <i>Clostridium</i> ^m <i>Eubacterium saburreum</i> <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> <i>Propionibacterium</i> (<i>P. acnes</i> , <i>P. avidum</i> , <i>P. granulosum</i> , <i>P. propionicus</i>)	Bacilles <i>Eikenella corrodens</i> sm	Bacilles <i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i>
	Cocci <i>Streptococcus</i> (<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. intermedius</i>)	Cocci <i>Fingoldia magna</i> <i>Peptoniphilus asacharolyticus</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>		Cocci <i>Veillonella</i>
Caries des racines	Bacilles <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>Rothia</i>	Bacilles <i>Actinomyces</i> (<i>A. gerencseriae</i> , <i>A. israelii</i> , <i>A. odontolyticus</i>) <i>Bifidobacterium dentium</i> <i>Clostridium</i> ^m <i>Eubacterium</i> <i>Propionibacterium acnes</i>	Bacilles <i>A. a</i> * <i>Campylobacter</i> (<i>C. rectus</i> ^m , <i>C. gracilis</i> ^m) <i>Capnocytophaga</i> ^m	Bacilles <i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Selenomonas</i> ^m
	Cocci <i>Streptococcus</i> (<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. sanguinis</i>), <i>Gemella morbillorum</i>	Cocci <i>Micromonas micros</i>		Cocci <i>Veillonella</i>

*A. a = *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ; m = bactéries mobiles ; sm = mobilité par saccades

les principales bactéries impliquées dans l'étiologie des caries sont les streptocoques du groupe mutans, les lactobacilles et les actinomyces (Figure 3.18). Les streptocoques jouent un rôle essentiel dans l'initiation de la lésion carieuse et dans les récives sous obturation, alors que les lactobacilles sont plutôt responsables de l'évolution des lésions et les actinomyces sont impliqués dans les caries radiculaires.

Figure 3.18 : principales bactéries cariogènes. a) *Streptococcus mutans*. b) *Lactobacillus*. c) *Actinomyces*. (documents Dr O. Barsotti - Laboratoire d'étude des interfaces et des biofilms en odontologie - Faculté d'odontologie - Lyon I).



Les streptocoques mutans

Parmi les streptocoques du groupe mutans, les espèces *S. mutans* et *S. sobrinus* sont le plus souvent isolées de caries dentaires humaines. Leur habitat privilégié au sein de la cavité buccale est la surface dentaire et leur présence est surtout liée à l'éruption des dents. Pour la plupart des auteurs, la colonisation a lieu dans les douze premiers mois de la vie. Des périodes d'infectiosité préférentielles sont décrites, en particulier lors de l'éruption des molaires lactéales (19-33 mois) et des molaires permanentes. Toutefois, la colonisation des muqueuses du nouveau-né est possible (consommation importante de saccharose et fort taux de *S. mutans* salivaire maternel). La principale source de contamination serait la flore buccale maternelle et plus l'enfant est contaminé tôt (avant l'âge de deux ans), plus son risque carieux sera important.

Les streptocoques mutans ont de nombreux facteurs de virulence, qui leur confèrent un pouvoir cariogène et un avantage écologique sur les autres bactéries du biofilm (Tableau 3.9). Ce sont des micro-organismes acidogènes et acidotolérants, responsables de la déminéralisation des tissus dentaires et capables de résister au pH bas engendré par la formation d'acides. Ils sont capables également

de synthétiser des polymères extracellulaires nécessaires à leur adhésion aux surfaces dentaires, ainsi que des polymères intracellulaires, véritables réserves d'énergie leur permettant de survivre, même en l'absence de sucres.

Tableau 3.9 : facteurs de virulence de *S. mutans*.

Facteurs de virulence	Rôle
Synthèse de polymères extracellulaires	Adhésion aux surfaces dentaires
Synthèse de polymères intracellulaires (glycogène)	Survie bactérienne Production d'acides lors de carence en saccharose = dégradation des polymères par une glycogène-phosphorylase
Production d'acides = acidogénèse	Déminéralisation des tissus dentaires
Résistance aux acides = acidotolérance	Survie en milieu acide
Production de dextranases (= glycane-hydrolase) ou fructanases inductibles	Apport de glucose ou fructose en cas de carence en nutriments = hydrolyse des polymères extracellulaires

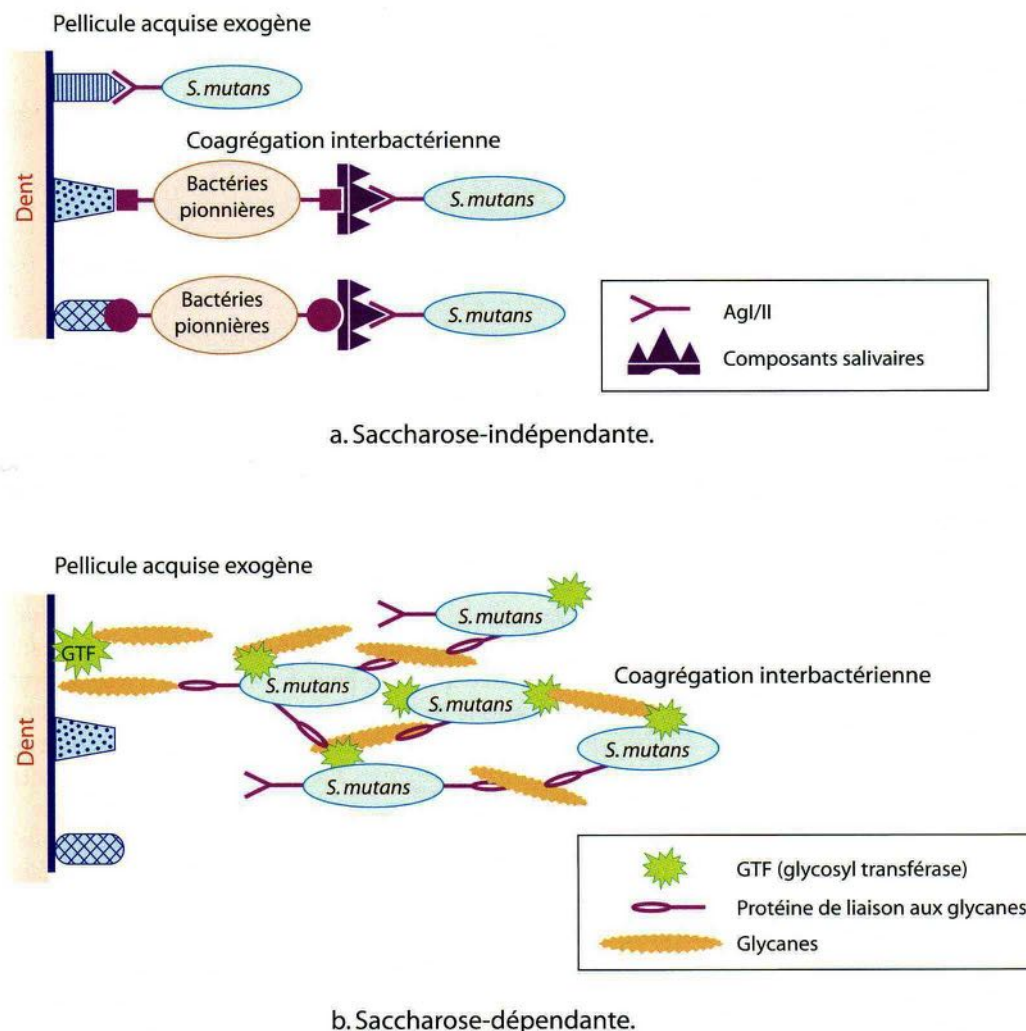
Un des principaux facteurs de virulence des streptocoques mutans est leur aptitude à adhérer aux surfaces dures (Figure 3.19), ce qui leur permet de se multiplier et de résister aux forces engendrées par l'activité musculaire lors de la mastication, de la phonation et de la déglutition. Ces bactéries adhèrent par deux mécanismes différents : l'un indépendant de la présence de saccharose, l'autre pas. En l'absence de sucre, la bactérie peut adhérer aux agglutinines salivaires, aux autres bactéries, à la matrice extracellulaire de la plaque et aux cellules épithéliales par l'intermédiaire de liaisons ioniques ou de type lectine. Les streptocoques mutans possèdent à leur surface plusieurs adhésines (antigènes I/II = AgB/P1/SpaP/PAC pour *S. mutans* et SpaA/Pag pour *S. sobrinus*) qui reconnaissent spécifiquement un récepteur salivaire incorporé dans la pellicule exogène ou la plaque (agglutinine, glycoprotéine riche en proline). L'adhésion bactérienne aux surfaces dentaires se fait également par l'intermédiaire de polymères extracellulaires insolubles synthétisés à partir du saccharose de l'alimentation (GTF-I). La transcription des gènes codant pour les GTF est augmentée en présence de saccharose et lorsque les bactéries sont fixées aux surfaces dures. Les GTF présentes dans le milieu ou fixées à la surface des cellules peuvent servir de point d'ancrage pour les chaînes de glycanes qu'elles ont synthétisées.

Il existe également, à la surface des cellules bactériennes, des récepteurs spécifiques des glycanes (protéines A et C). Des agrégats d'enzymes largués dans le milieu peuvent aussi lier des glycanes provenant de différentes bactéries. Enfin, des liaisons électrostatiques peuvent permettre la liaison des glycanes à la pellicule acquise exogène.

Les autres micro-organismes cariogènes

Les lactobacilles sont présents en grand nombre au sein des cavités carieuses, et en particulier dans la dentine cariée profonde, ce qui tend à démontrer que ces micro-organismes sont probablement plus impliqués dans la progression de la lésion que dans son initiation. Les lactobacilles, comme les streptocoques mutans, sont capables de produire des acides à partir des sucres de l'alimentation et de résister au pH bas engendré par ces acides. Le nombre important de lactobacilles dans la dentine déminéralisée s'explique par l'affinité de ces bactéries pour le collagène de type I. Un nombre élevé de ces bactéries dans la salive est également le témoin d'une consommation excessive de sucres fermentescibles. Les espèces les plus fréquemment isolées sont : *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. oris*, *L. plantarum* et *L. salivarius*.

Figure 3.19 : adhérence des streptocoques mutans à la pellicule acquise exogène et coagrégation interbactérienne: a) saccharose-indépendante. b) saccharose-dépendante.



De nombreuses espèces d'*Actinomyces* sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire et dans l'étiologie des caries radiculaires. Ainsi, *A. naeslundii* genospecies 2 est capable, grâce à ses *fimbriae* de type 1, d'adhérer à la pellicule acquise exogène. Il est aussi impliqué, grâce à ses *fimbriae* de type 2, dans des phénomènes de co-agrégation, participant ainsi à l'augmentation en épaisseur de la plaque. *A. odontolyticus* fait partie des espèces pionnières lors de la formation de la plaque et il est également isolé dans les lésions dentinaires profondes. *A. naeslundii* et *A. gerencseriae* sont isolés de lésions carieuses radiculaires. Les espèces du genre *Actinomyces*, en dégradant le glycogène, prolongent la production d'acides à la surface dentaire et auraient donc ainsi un potentiel cariogène.

Rôle des interactions bactériennes au sein de la plaque

D'autres bactéries présentes au sein de la plaque sont par contre capables de lutter contre le pouvoir pathogène des bactéries cariogènes. Ainsi, certains micro-organismes de la plaque sont capables d'utiliser les acides et en particulier l'acide lactique. C'est le cas de *Veillonella* spp., *Neisseria* spp. et *Pseudoramibacter alactolyticus* (ex-*Eubacterium alactolyticum*). Les veillonelles, par exemple, métabolisent le lactate en propionate et en acétate moins déminéralisants. D'autres bactéries produisent des métabolites alcalins lors du métabolisme de l'urée en NH_3 et CO_2 et lors de la décarboxylation des acides aminés de la plaque en amines. Si des espèces uréolytiques telles qu'*Actinomyces*, *Streptococcus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Bifidobacterium adolescentis* ont été retrouvées en petit nombre chez certains sujets, d'autres comme *Haemophilus parainfluenzae* ont été isolées en grand nombre sur des sites présentant un pH élevé avec forte concentration d'ammoniaque. Les bacilles à Gram négatif sont également capables de produire du NH_3 en désaminant les acides aminés. L'augmentation du pH due à cette production de métabolites alcalins pourrait être un des facteurs contribuant à la reminéralisation après une attaque carieuse initiale. Le métabolisme des petits peptides et des acides aminés par les bactéries de la plaque contribue à la balance acide-base dans la plaque dentaire. Ce processus est lent car il nécessite l'action synergique d'un consortium de bactéries de la plaque, il n'est donc pas compétitif avec le taux de formation d'acides à partir d'une diète sucrée. Ce type de métabolisme peut toutefois soutenir la microflore buccale pendant de longues périodes en absence de consommation de nourriture par leur hôte.

L'alimentation : rôle des sucres

Les glucides de l'alimentation sont impliqués dans le processus carieux mais ils ne peuvent à eux seuls être à l'origine de la lésion carieuse. En effet, les individus ayant une alimentation très riche en sucres ne sont pas atteints systématiquement de caries. Un aliment n'est cariogène que s'il contient des glucides fermentescibles. Toutefois, un certain nombre d'autres facteurs influent sur le potentiel cariogène d'un aliment : son pH et son pouvoir tampon, son effet stimulateur sur la salivation, son influence sur la flore buccale, sa nature physique, la présence d'éléments modérateurs (lipides, caséine, minéraux, vitamines, phytates, tanins...), sa consistance et le temps de rétention dans la cavité buccale, ses conditions d'ingestion. Parmi ces facteurs, trois sont particulièrement importants et ont fait l'objet d'un grand nombre d'études : la nature des sucres, leur quantité et leur fréquence d'ingestion.

Nature des sucres ingérés

Les glucides capables d'être fermentés par les bactéries buccales sont les mono- et disaccharides de l'alimentation, qui sont en solution dans la salive (glucose, fructose, saccharose, maltose et lactose) et les amidons. Ces derniers doivent d'abord être scindés en maltose et glucose, principalement par l'amylase salivaire, avant d'être fermentés. C'est pourquoi le risque carieux est faible lors de l'ingestion d'amidon qu'il soit cuit ou cru (pommes de terre, riz, pain). Cependant, différents dérivés hydrolysés de l'amidon (sirop de glucose, sirop de fructose) se trouvent actuellement dans de nombreux aliments et boissons. Ils comportent de très courtes chaînes glucidiques qui peuvent être fermentées dans la cavité buccale. Il faut également souligner que les techniques qui consistent à purifier les carbohydrates d'un aliment en enlevant les protéines, les graisses et les fibres qui lui sont associées, ou bien à concentrer ou rajouter des sucres augmentent le risque cariogène. Les aliments qui ont subi le moins de modifications et qui restent le plus près possible de leur état naturel (fruits et légumes frais, pâtes, pain) sont reconnus comme moins cariogènes que les autres (sodas, chips, gâteaux, bonbons).

Les sucres habituellement rencontrés dans l'alimentation ne présentent aucune différence en ce qui concerne la production d'acides et leur pouvoir de déminéralisation de l'émail. Le lactose semble avoir un potentiel acidogène un peu moins élevé que les autres glucides. De plus, les autres substances présentes dans le lait atténueraient son potentiel cariogène. Les glycanes insolubles, produits à partir du saccharose (GTF-I), augmentent la porosité de la plaque et permettent ainsi une pénétration plus profonde du sucre à l'intérieur du biofilm, et donc une production plus importante d'acides près de la surface dentaire. Des études récentes ont d'ailleurs montré une corrélation entre la production de glycanes insolubles par *S. mutans* et la prévalence carieuse chez de jeunes enfants. Ces résultats suggèrent que la capacité des streptocoques à synthétiser des polymères extracellulaires serait plus importante pour expliquer l'apparition de caries que leur nombre au sein de la plaque.

Rôle de la quantité de sucres ingérée

Certaines bactéries, comme les streptocoques et les lactobacilles, dans des conditions d'abondance de glucides exogènes et d'anaérobiose sont généralement des homofermentaires lactiques. L'acide lactique, fortement déminéralisant, constitue alors plus de 90 % des métabolites terminaux. Dans d'autres conditions, en particulier lorsque la croissance bactérienne est limitée par la rareté d'un nutriment (glucide ou autre), que le pH du milieu est alcalin, ou en condition d'aérobiose, ces micro-organismes vont adopter un métabolisme de type hétérofermentaire. Ils produisent alors en plus de l'acide lactique, des acides organiques peu déminéralisants (acétique, formique, propionique et butyrique) ainsi que de l'éthanol. La proportion relative des divers métabolites produits est donc fonction du nombre d'espèces bactériennes présentes au sein de la plaque, mais également de la quantité de sucres fermentescibles présents dans l'alimentation. En effet, l'activité de deux enzymes (lactate déhydrogénase et pyruvate formate-lyase) intervenant lors de la glycolyse, est régulée par certains intermédiaires de cette voie (Figure 3.20). La présence de fructose-1,6-diphosphate a tendance à activer la lactate déhydrogénase et le D-glycéraldéhyde-3-phosphate a tendance à inhiber la pyruvate formate-lyase. Ainsi, si le glucose est présent en grande quantité dans l'alimentation, les concentrations intrabactériennes en fructose-1,6-diphosphate et en glycéraldéhyde-3-phosphate sont également importantes. On a donc activation de la voie homofermentaire et inhibition de la voie hétérofermentaire. Par contre, celle-ci sera activée lorsque la concentration en sucres fermentescibles de l'alimentation sera réduite. La formation de métabolites acides moins fortement dissociés entraînera alors une chute de pH moins prononcée.

Une consommation importante de saccharose est responsable d'une augmentation du nombre de streptocoques au sein de l'écosystème buccal.

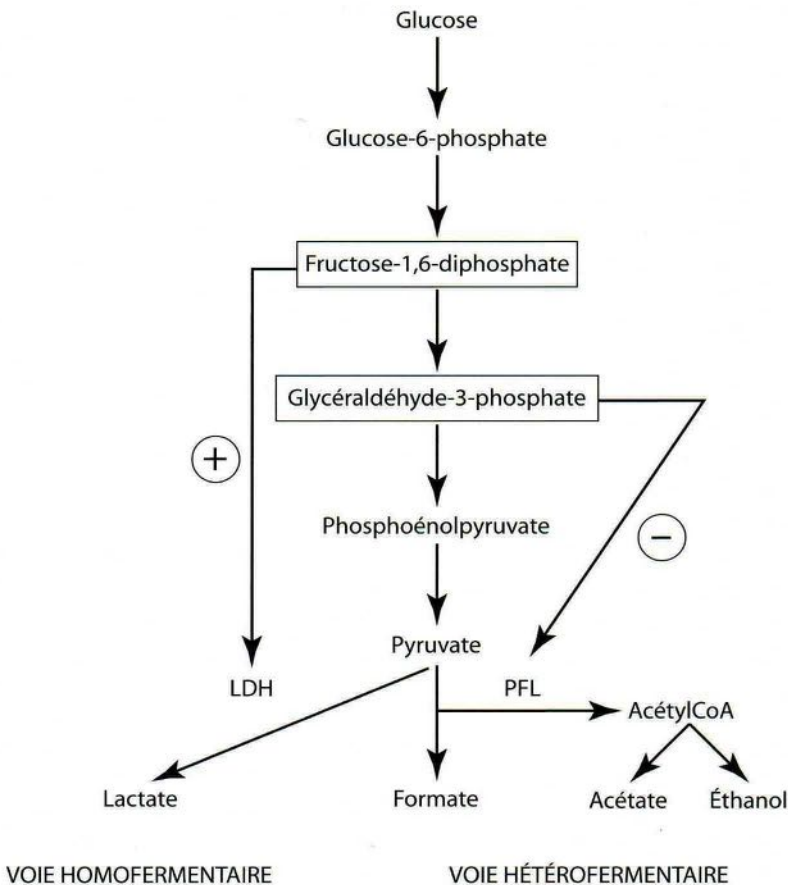
Influence de la fréquence et du moment d'ingestion

La virulence des bactéries cariogènes est influencée non seulement par la quantité de sucre ingérée mais aussi par la fréquence d'ingestion. Avant l'ingestion de sucre, le pH de la plaque est généralement stable et très proche de la neutralité (6,5-7). L'exposition à un glucide fermentescible entraîne une baisse de pH immédiate et rapide. Le niveau de pH minimum atteint et le temps pendant lequel il s'y maintient dépendent de plusieurs facteurs : nature et disponibilité du glucide, pouvoir tampon du biofilm dentaire et de la salive, composition microbienne, épaisseur et âge du biofilm, mais aussi durée de la prise alimentaire. Puis, le pH remonte doucement jusqu'à sa valeur de repos, après neutralisation par divers composés du biofilm et de la salive, et par diffusion, hors de la plaque, des acides organiques produits par le métabolisme bactérien. Ainsi, une consommation fréquente de saccharose entraîne une acidité continue propice à la déminéralisation, qui s'oppose au potentiel de reminéralisation des ions salivaires. La déminéralisation devient donc le processus dominant. Si l'on part du

principe qu'une prise alimentaire dure en moyenne 30 minutes et que le pH buccal ne revient à sa valeur de neutralité qu'au bout de 30 minutes, un individu prenant 4 prises alimentaires dans la journée exposera ses dents pendant 4 heures à la déminéralisation et 20 heures à la reminéralisation. Par contre, si cet individu grignote toute la journée, il s'exposera beaucoup plus longtemps à des processus de déminéralisation.

D'autres circonstances peuvent également jouer un rôle sur le pouvoir cariogène de l'aliment, comme par exemple sa place au cours du repas. Ainsi, un sucre consommé entre les repas a un potentiel cariogène plus important que s'il est consommé au cours du repas. De même, lors du sommeil, le ralentissement du flux salivaire diminue l'élimination buccale des sucres et augmente ainsi le temps de contact entre les bactéries du biofilm et leur substrat, et donc le potentiel cariogène des sucres. Ceci explique les nombreuses caries observées chez l'enfant qui s'endort avec un biberon contenant un liquide sucré.

Figure 3.20 : métabolisme du glucose par les bactéries acidogènes. LDH = lactate déshydrogénase; PFL = pyruvate formate lyase.



Toutefois, le pouvoir cariogène des aliments reste difficile à évaluer, d'une part à cause de l'étiologie multifactorielle de la carie et d'autre part, à cause de l'alimentation mixte et variée de l'homme. Les véritables relations entre consommation de sucre et apparition de caries sont d'autant plus difficiles à comprendre que des facteurs environnementaux, génétiques, sociaux, économiques, politiques et éducationnels interviennent.

Rôle de l'hôte

Rôle de la salive

La salive joue un rôle primordial dans la défense de la dent vis-à-vis de l'atteinte carieuse (Tableau 3.10). Elle contient un nombre important de protéines qui participent à la protection des tissus buccaux ainsi que des peptides à action bactéricide. À l'exception des immunoglobulines, l'activité des substances antimicrobiennes de la salive n'est pas spécifique d'une espèce bactérienne donnée. Ainsi, le rôle de ces substances est plutôt de prévenir la prédominance de telle ou telle espèce sur les autres et d'établir puis de maintenir l'équilibre de l'écosystème (§ Interactions flore-hôte).

Deux mucines salivaires génétiquement différentes ont été identifiées, une de haut poids moléculaire appelée MG1 puis MUC5B, l'autre de poids moléculaire plus faible appelée MG2 puis MUC7. MUC7 est capable de se fixer à beaucoup de bactéries et en particulier à *S. mutans*.

À côté de ces protéines dites majeures, on distingue les protéines mineures car présentes en plus faible quantité. Un certain nombre d'entre elles comme le lysozyme, la peroxydase, la lactoferrine, les histatines, les défensines et la cathélicidine ont un rôle antibactérien démontré (§ Interactions flore-hôte).

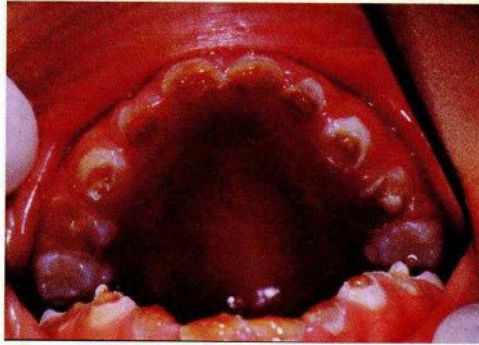
La salive exerce un pouvoir tampon grâce aux carbonates, aux phosphates et à certaines protéines (urée par exemple), ce qui lui permet de lutter contre les baisses de pH occasionnées par les substances acides apportées par l'alimentation ou produites lors du métabolisme bactérien.

Le flux salivaire est responsable de l'élimination continue des aliments et d'une partie de la flore buccale vers les voies digestives. Il existe une corrélation entre la présence de caries dentaires et la valeur du flux salivaire. Mais, il existe chez chaque individu une limite seuil en dessous de laquelle on note une augmentation de l'activité carieuse. Les valeurs normales du flux salivaire, chez l'adulte, sont comprises entre 1 et 2 mL/min pour un flux stimulé et entre 0,25 et 0,35 mL/min pour un flux non stimulé. Ce flux est le facteur salivaire le plus important en carioprophylaxie car de lui dépendent tous les autres facteurs (pouvoir tampon, quantité de substances antimicrobiennes...). Ainsi, les individus souffrant de xérostomie, à cause d'une aplasie, d'une irradiation des glandes salivaires, d'une sclérodémie ou du syndrome de Sjögren sont très sujets aux caries dentaires, leur salive étant diminuée de 90% ou plus. Sans programme préventif, de tels sujets peuvent développer des caries rampantes en moins de 3 mois (Figure 3.21). De même, certains traitements (antidépresseurs, neuroleptiques, anxyolytiques, diurétiques, anti-hypertenseurs...) peuvent modifier le débit salivaire ou certaines propriétés salivaires.

Tableau 3.10 : rôles de la salive (et du fluide gingival).

Facteur	Rôle
Pouvoir tampon	Neutralisation des acides bactériens
Flux	Élimination des aliments et des bactéries
Réservoir d'ions (calcium, phosphates, fluor)	Reminéralisation de l'émail
Substances antibactériennes (IgA sécrétoires, IgG, lysozyme, lactoferrine, systèmes peroxydases...)	Contrôle de la prolifération bactérienne

Figure 3.21 : caries rampantes (cas clinique Pr. JJ. Morrier - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Résistance de la dent à l'attaque acide

Juste après leur éruption au sein de la cavité buccale, les surfaces amélaire, encore immatures, subissent des phénomènes de maturation post-éruptive. C'est pendant cette période que la dent est la plus sensible à l'attaque acide. Durant cette période d'éruption, l'inflammation et des saignements fréquents rendent le brossage douloureux et inefficace, ce qui conduit à une plaque dentaire abondante et à la stagnation de débris alimentaires. Chez beaucoup d'enfants, la combinaison d'un émail encore immature, l'ingestion fréquente de glucides fermentescibles et une flore cariogène importante rendent la dent particulièrement susceptible à la carie. De même, la présence de défauts de structure de l'émail (hypoplasies...) augmente le risque carieux. En effet, les irrégularités de surface sont propices à la colonisation bactérienne et à la rétention des aliments. Dans les cas les plus sévères, l'absence d'émail met à nu la dentine qui est beaucoup moins résistante à l'attaque acide.

Prévention de la carie dentaire

Étant donné les caractéristiques étiopathogéniques de la pathologie carieuse, les approches préventives sont multiples. Elles comprennent le renforcement des facteurs de protection et de reminéralisation de la dent ainsi que la réduction des facteurs responsables de la déminéralisation. Ces différentes approches s'adressent à l'hôte, à la flore cariogène et au régime alimentaire et peuvent se diviser en :

- l'augmentation de la résistance de la dent par l'emploi des ions fluorure et des sealants;
- le contrôle du biofilm dentaire et la réduction des micro-organismes cariogènes par l'emploi d'agents antibactériens;
- le contrôle du régime alimentaire;
- l'immunisation qui peut être, active ou passive.

Ces mesures préventives sont donc complémentaires et sont différentes selon le risque carieux élevé ou non du sujet.

Rôle des ions fluorure

De nombreuses études épidémiologiques ont montré le rôle essentiel des ions fluorure (Tableau 3.11) dans la réduction du taux de caries dentaires dans les pays industrialisés. Cette réduction varie selon la source d'apports fluorurés et est, en moyenne, comprise entre 10 et 60 % (Tableau 3.12). Parmi les différents apports, l'emploi d'une pâte dentifrice fluorurée est le moyen de prévention de la carie dentaire le plus important et un des plus efficaces.

Tableau 3.11 : les différents types de fluorures.

Fluorures inorganiques	Fluorures organiques
NaF : fluorure de sodium	Olafluor® : fluorure d'amines
Na ₂ FPO ₃ : monofluorophosphate de sodium	Fluorinol® : fluorhydrate de nicométhanol
SnF ₂ : fluorure d'étain	
NH ₄ F : fluorure d'ammonium	
KF : fluorure de potassium	

Tableau 3.12 : efficacité des apports fluorurés dans la réduction de la carie dentaire.

Source d'ions fluorure	% de réduction de la carie dentaire
Eau	50 - 60
Sel	40 - 60
Suppléments (gouttes, comprimés)	50 - 60
Dentifrice	10 - 50
Bains de bouche	20 - 40
Gels/vernis	40 - 60

À l'heure actuelle, il est admis que le rôle carioprophylactique des ions fluorure incorporés dans les cristaux d'émail pendant la période d'amélogenèse (administration systémique de fluorure) est très faible par rapport à celui des fluorures présents à la surface de l'émail au cours des phases de dé/reminéralisation (applications topiques de fluorure). La présence, en continue, d'ions fluorure, à faibles concentrations, à l'interface émail/plaque dentaire, est considérée comme l'élément clé pour un effet carioprotecteur optimal.

Les fluorures topiques, en carioprophylaxie, agissent essentiellement selon trois modes d'action :

- en favorisant la reminéralisation des surfaces dentaires déminéralisées par formation d'apatites fluorées et de fluorure de calcium à la surface de l'émail. Ces surfaces reminéralisées sont également plus résistantes à l'attaque acide;
- en inhibant la déminéralisation acide de l'émail dentaire par précipitation d'un minéral riche en fluorure à la surface des cristallites de l'émail lorsque le pH est acide. Il a été démontré que 1 ppm de fluorure présent à l'interface émail/fluide buccal est suffisant pour diminuer le taux de dissolution de l'émail dentaire.

Ces deux actions complexes se superposent et constituent le rôle essentiel des fluorures en carioprophylaxie. La formation de fluorure de calcium (microgranules < 1 µm) sur les surfaces d'émail et dans la plaque dentaire est un élément important dans cette action. Le fluorure de calcium sert de réservoir de fluorure à la surface de l'émail, les ions fluorure étant libérés lorsque le milieu devient acide. Ce processus est sous la dépendance des ions phosphate et calcium présents dans les fluides oraux. Ces granules peuvent persister à la surface de l'émail plusieurs mois après une application topique de fortes concentrations de fluorure (vernis, gel...);

- en perturbant le métabolisme des streptocoques mutans lorsque le pH chute. Plus le pH est bas, plus les cellules bactériennes sont sensibles et ont un métabolisme énergétique perturbé se traduisant par une diminution de la production d'acides. À pH acide, les ions F⁻ s'associent avec les ions H⁺ sous la forme HF qui peut ainsi pénétrer à l'intérieur des cellules bactériennes. Le pH intracellulaire étant voisin de 7, HF se redissocie en ions H⁺ et F⁻. Les ions F⁻ inhibent l'énolase, les systèmes de transport des sucres, la synthèse de polysaccharides intracellulaires, inactivent de nombreuses enzymes

métaboliques et interfèrent avec la perméabilité membranaire. Il a été démontré qu'à pH = 7 il faut 12 000 ppm d'ions fluorure pour tuer les streptocoques mutans alors que 5-7 ppm sont suffisants à pH = 5.

Le tableau 3.13 résume les recommandations concernant les applications topiques de fluorures, chez le patient à risque carieux élevé, selon son âge.

Tableau 3.13 : prescriptions et applications topiques de fluorures : recommandations (* selon l'âge et après bilan fluoruré).

Enfants < 6 ans à risque carieux élevé	Enfants > 6 ans et capables de cracher, adolescents et adultes à risque carieux élevé
Dentifrice fluoruré (< 600 ppm) 2 fois par jour au moins	Dentifrice fluoruré (1 000 – 1 500 ppm) : 2 fois par jour au moins
Prescription adaptée* (gouttes, comprimés)	Prescription adaptée* (comprimés) ou Bain de bouche fluoruré (NaF) à 0,05 % (1 fois par jour/une minute) à 0,2 % (1 fois par semaine)
Pas de bains de bouche fluoruré	Gel fluoruré (> 10 000 ppm) ou vernis fluorurés : 4 fois par an
Vernis fluoruré : 4 fois/an	

Les résines de scellement des sillons

Les puits et fissures sont des lieux privilégiés de rétention alimentaire et du biofilm dentaire. Leur comblement par une résine de scellement crée une barrière physique entre la dent et les facteurs cariogènes et facilite le nettoyage dentaire.

Contrôle du biofilm dentaire = hygiène bucco-dentaire

Elle consiste en l'élimination quotidienne du biofilm dentaire par le brossage dentaire et l'utilisation de fil dentaire. Effectuée au moins deux fois par jour, elle constitue la mesure la plus efficace dans la prévention de la gingivite. Par contre, cette mesure n'a que peu d'efficacité dans la prévention de la carie dentaire si le dentifrice utilisé n'est pas fluoruré.

Agents antibactériens

La carie dentaire étant une pathologie d'origine bactérienne qui se caractérise par un déséquilibre de l'écosystème buccal avec une augmentation des streptocoques mutans, l'emploi d'agents antibactériens anti-*S. mutans*, pour prévenir et contrôler son apparition est une solution logique. Il existe un consensus pour réserver cette approche aux sujets ayant des caries actives ainsi qu'aux patients dont le risque carieux est élevé. Cette approche antimicrobienne ne sera cependant efficace que si elle est couplée à des mesures permettant de réduire, voire de supprimer une recolonisation de la cavité buccale.

Parmi tous les agents antibactériens actifs sur la flore buccale (Tableau 3.14), la chlorhexidine est l'agent le plus efficace (bains de bouche, gels, vernis) sur le biofilm dentaire et sur les streptocoques mutans. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont démontré cette action. Cependant, lorsque l'on veut évaluer l'intérêt d'un agent antibactérien dans la prévention de la carie, il faut que les études portent non seulement sur les effets sur les streptocoques mutans mais aussi sur la réduction de la carie à long terme. Ces études sont malheureusement peu nombreuses.

Les autres agents antibactériens efficaces sur les streptocoques mutans sont les fluorures, le xylitol, le triclosan et la povidone iodée. Le fluorure d'étain et l'association fluorure d'amines fluorure d'étain

se sont aussi révélés très efficaces dans la prévention de la formation du biofilm et de l'inflammation gingivale.

Tableau 3.14 : principaux agents antibactériens.

Agents cationiques	chlorhexidine, hexétidine, chlorure de cétylpyridinium, sanguinarine, Cu ⁺⁺ , Sn ⁺⁺ , Zn ⁺⁺ ...
Agents anioniques	fluorure, lauryl sulfate de sodium
Dérivés phénolés	listerine, triclosan
Dérivés iodés	povidone iodée = Bétadine
Aldéhydes	formaldéhyde-tyrothricine
Agents oxydants	peroxyde d'hydrogène
Polyols	Xylitol, sorbitol

Conseils d'hygiène alimentaire

Il existe des données suffisantes montrant l'efficacité des conseils d'hygiène alimentaire chez les personnes à risque carieux élevé. Il est également recommandé de modifier les méthodes d'alimentation du nourrisson (pas d'alimentation prolongée au moyen d'un biberon contenant un liquide sucré). Chez ces individus à risque, il est plus important de réduire la fréquence de prise des glucides fermentescibles que leur quantité. Les recommandations sont de ne pas dépasser 5 prises dans la journée. Afin de diminuer cette consommation et la fréquence de prise, les substituts du sucre qui sont peu ou non acidogènes, donc peu ou non cariogènes, et que l'on retrouve essentiellement dans les sodas, les sucrettes, les chewing-gums et confiseries, les aliments diététiques, les aliments pour diabétiques, les produits pharmaceutiques... représentent une solution intéressante.

Ces substituts ou succédanés du sucre se divisent en deux grandes familles : les édulcorants intenses, qui ne sont pas métabolisés par les micro-organismes cariogènes, et les édulcorants de masse ou polyols qui sont peu (sorbitol...) ou non métabolisés (xylitol) par les micro-organismes cariogènes (Tableau 3.15).

Tableau 3.15 : principaux édulcorants (* le moins cariogène des édulcorants naturels, ** autorisés par la Communauté Européenne).

Édulcorants naturels	Succédanés du sucre**	Édulcorants intenses**
Saccharose	Sorbitol (E 420)	Saccharine (E 954)
Fructose	Mannitol (E 421)	Aspartam (E 951)
Glucose	Isomalt (E 953)	Acésulfame (E 950)
Isoglucose	Maltitol (E 965)	Cyclamates de sodium ou de potassium (E 952)
Galactose	Lactitol (E 966)	Thaumatococine (E 957)
Lactose*	Xylitol (E 967)	
Maltose		
Sucre inverti		
Miel		

Les principales propriétés attribuées au xylitol, justifiant son utilisation comme succédané du sucre dans la prévention de la carie dentaire, sont les suivantes :

– stimulation de la sécrétion salivaire;

- non cariogénicité car non acidogène;
- inhibition de la croissance des streptocoques mutans (cycle futile);
- diminution de l'adhérence des streptocoques mutans sur les surfaces dentaires;
- diminution de la formation de la plaque dentaire;
- aide à la reminéralisation des surfaces dentaires;
- réduction de la carie dentaire (30-85 %) par consommation de confiseries ou de chewing-gums à base de xylitol. Les effets bénéfiques du xylitol, chez les enfants, continueraient à s'exercer après arrêt de la consommation de chewing-gums au xylitol. Le xylitol favoriserait l'acquisition, par ces enfants, d'une flore bactérienne moins virulente, donc moins cariogène pour les dents faisant leur éruption, dans les deux ans suivant l'arrêt de la consommation de xylitol.

Cependant, cette action préventive active du xylitol fait l'objet de nombreuses controverses, plus particulièrement (i) son action dans la reminéralisation des lésions dentaires, (ii) la diminution des propriétés adhésives des streptocoques mutans et (iii) sur la supériorité du xylitol (chewing-gums, bonbons) par rapport au sorbitol dans la réduction du taux de caries. L'effet cario-protecteur des confiseries et des chewing-gums à base de xylitol serait dû essentiellement à une stimulation accrue du flux salivaire, même si un effet antibactérien ne peut être exclu.

Immunsation

Bien que la prévalence de la carie dentaire ait nettement diminué, la carie dentaire reste un important problème de santé publique pour certains groupes de populations dans les pays industrialisés et pour la majeure partie de la population des pays en voie de développement où l'accès aux soins dentaires et à la prévention est difficile ou impossible. Le développement d'une immunisation contre les micro-organismes cariogènes représente toujours une solution bénéfique et envisageable.

Immunsation active = vaccination

Le développement d'un vaccin anti-carie a commencé dès la reconnaissance de la nature infectieuse de la maladie carieuse. Si les lactobacilles ont été à la base des premiers essais de vaccination, ce sont les streptocoques mutans qui ont été retenus par la suite compte tenu de leur rôle primordial dans l'initiation de la carie dentaire.

Ces différents essais ont utilisé comme immunogènes : les cellules entières de *S. mutans* ou de *S. sobrinus*, les antigènes polysaccharidiques spécifiques de sérotype (c, e, f), les acides lipotéichoïques, les glycosyltransférases (GTF), les protéines de liaison aux glycanes (GPB), la protéine D (antigène protéique de 13 kDa), l'AgIII (protéine de 39 kDa), l'antigène A (antigène protéique de 29 kDa), l'antigène C (antigène protéique de 70 kDa), l'AgI/II (antigène protéique de surface de 190 kDa). L'utilisation de cellules entières de *S. mutans* et de *S. sobrinus* comme immunogènes a conduit à la production d'anticorps ayant des réactions croisées avec les tissus cardiaques humains. Elles ont donc été abandonnées au profit des autres immunogènes (sous-unités vaccinales). Parmi ces derniers, trois familles représentent les meilleurs candidats à une préparation vaccinale et ont fait l'objet du plus grand nombre d'expérimentations (Tableau 3.16) :

- la famille des adhésines fibrillaires de surface (Ag I/II, PAc, P1, B, IF, SR, MSL1, SpAa, Pag) qui permettent l'adhérence des streptocoques mutans aux surfaces dentaires par l'intermédiaire de la PAE (ie adhérence saccharose indépendante). Ce sont les protéines de surface les plus importantes en quantité (35 %);
- les glycosyltransférases. Des trois GTF retrouvées chez *S. mutans*, les GTF-B et GTF-C sont celles qui sont le plus associées à la pathogénicité. Comme il existe une grande similitude entre les GTF

- de *S. mutans* et de *S. sobrinus*, l'immunisation avec la GTF de *S. mutans* entraîne une réponse protectrice vis-à-vis de *S. sobrinus*;
- les protéines de liaison aux glycanes (GBP). Des trois GBP retrouvées chez *S. mutans*, seule la GBP B est capable d'entraîner une réponse immunitaire protectrice. Par contre, cette réponse n'est pas protectrice vis-à-vis de *S. sobrinus*. Les GBP de *S. sobrinus* n'ont pas encore été testées.

Tableau 3.16 : rôle des différents anticorps anti-streptocoques mutans (IgAs, IgG) dans la prévention de la carie dentaire (* IgAs, ** IgG au niveau de la partie cervicale de la dent).

Mécanismes	Cibles
Agglutination et clairance des agrégats*	Antigènes de surface
Blocage de l'adhérence à la PEA*	AgI/II et sa région de liaison aux protéines salivaires
Blocage de l'adhérence aux colonisateurs pionniers*	AgI/II
Inhibition de la synthèse de glycanes et de l'adhérence saccharose dépendante*	GTF (région catalytique + région de liaison aux glycanes)
Inhibition de la liaison aux glycanes*	GBP et région de liaison aux glycanes des GTF
Opsonisation et phagocytose**	AgI/II et autres ag de surface
Blocage de l'invasion des tubules dentinaires = mécanisme hypothétique	Ag I/II

Les premiers essais d'immunisation active chez l'animal ont utilisé la voie parentérale déclenchant la production d'IgG protectrices par l'intermédiaire du fluide gingival. Cependant, étant donné que les IgAs représentent les principales immunoglobulines retrouvées dans la salive (§ Interactions flore-hôte), la plupart des essais d'immunisation ont, par la suite, cherché à stimuler la production d'IgAs salivaires par une immunisation muqueuse en utilisant les voies buccales, digestives ou nasales. Ces différents essais d'immunisation ont entraîné une diminution du nombre de streptocoques mutans dans la plaque, ainsi qu'une réduction du nombre de lésions carieuses (30-92 %). Afin d'améliorer la réponse immunitaire, les immunogènes ont été purifiés et associés à des liposomes, des microparticules, à la sous-unité non toxique de la toxine cholérique, à des entérotoxines, ou bien exprimés dans des souches de *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus zeae* ou dans des plasmides à ADN.

Les essais d'immunisation chez l'homme ont exploré la stimulation du système immunitaire muqueux commun chez des volontaires adultes. Les voies de stimulation ont été l'ingestion, l'instillation nasale, la stimulation des tonsilles palatines (amygdales) ou du tissu lymphoïde associé aux glandes salivaires accessoires de la lèvre inférieure. La stimulation du système immunitaire muqueux par des capsules à base de GTF ou de l'association GTF + AgI/II de *S. mutans* entraîne l'augmentation du taux d'IgAs anti-*S. mutans*. Les préparations à base de GTF ont également interféré avec la colonisation des surfaces dentaires par *S. mutans* tout comme l'ingestion de préparations à base de cellules entières de *S. mutans* lyophilisés ou de *S. sobrinus* tués.

Immunisation passive

Cette approche a été utilisée avec succès, dans le contrôle de la colonisation des surfaces dentaires par les streptocoques mutans, aussi bien chez l'animal (singe, rat), que chez l'homme (volontaires adultes). Cette approche permet d'éliminer tout risque inhérent à une immunisation active. Les anticorps testés provenaient de la souris (anticorps monoclonaux anti AgI/II, anticorps anti-spaA), du jaune d'œuf (anticorps dirigés contre la cellule entière *S. mutans*, anticorps anti-GTF), du lait de vache (anticorps

dirigés contre la cellule entière *S. mutans*/*S. sobrinus*, anticorps anti-GBP B, anticorps antisérotypes a-g, anticorps anti-PAC + Gtf-I) ainsi que de plantes de tabac transgéniques (IgAs + IgG anti-AgI/II). Ces anticorps ont été soit incorporés à l'alimentation ou/et à l'eau de boisson (rat), ou bien administrés sous forme de bains de bouche (homme), d'applications topiques (singe, homme).

Les expérimentations chez l'animal (singe, rat) ont aussi montré que cette administration passive d'anticorps était associée à une réduction de la carie dentaire (50-100 %).

Chez l'homme, l'administration topique de ces anticorps diminue le nombre de *S. mutans* dans la plaque et retarde la recolonisation des surfaces dentaires par *S. mutans*. Ainsi, après traitement à la chlorhexidine, l'application topique d'anticorps monoclonaux de souris (IgG anti AgI/II) ou transgénique (IgAs + IgG anti AgI/II) a retardé la colonisation de la cavité buccale par *S. mutans* de 2 ans et de 4 mois respectivement alors que les sujets témoins étaient recolonisés en 82 jours et 58 jours respectivement.

Infections endodontiques et périapicales

(O. Barsotti, J.C. Maurin)

Endodonte et région périapicale

L'endodonte comprend la chambre pulpaire, située à l'intérieur de la couronne et abritant la pulpe camérale, et un ou plusieurs canal (aux) radiculaire(s), situé(s) à l'intérieur des racines et contenant la pulpe radiculaire. La pulpe dentaire est un tissu conjonctif lâche constitué de cellules et d'une matrice extracellulaire située dans un espace inextensible pratiquement clos.

Le canal radiculaire s'étend jusqu'au foramen apical, situé à l'extrémité apicale de la racine, et par lequel les éléments vasculo-nerveux pénètrent dans le tissu pulpaire. Le canal radiculaire principal comporte de nombreux canaux accessoires (latéraux, apicaux ou de furcation) qui communiquent avec le desmodonte et sont des voies privilégiées de la contamination endodontique d'origine parodontale.

La région périapicale, située autour de l'apex, est essentiellement formée par les tissus profonds parodontaux, le cément radiculaire, l'os alvéolaire et, entre les deux, le desmodonte ou ligament dento-alvéolaire.

Etiopathogénie des infections endodontiques et périapicales

Le développement d'une infection endodontique et périapicale dépend à la fois des facteurs d'agression bactériens et des défenses locales et générales de l'hôte.

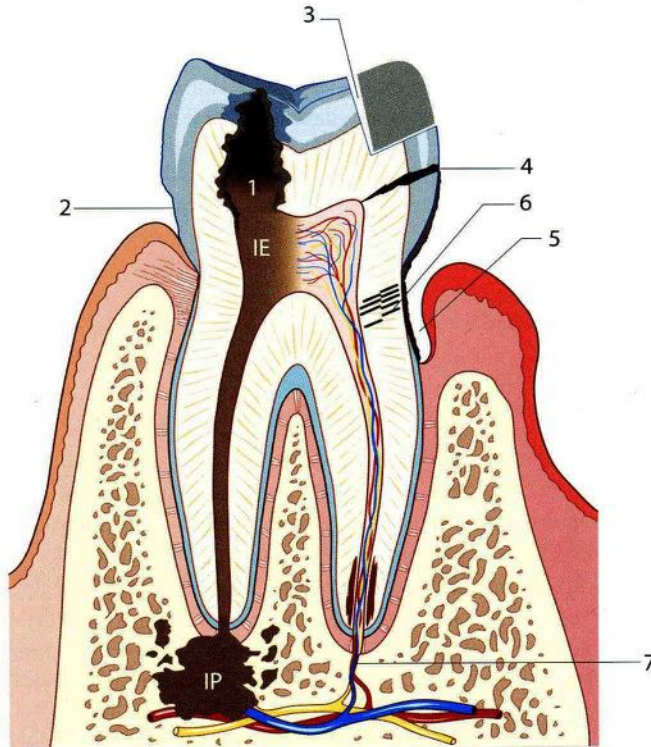
Au sein de l'endodonte, la pulpe dentaire est normalement protégée vis-à-vis du milieu buccal et des infections bactériennes. Cependant, des agressions subies par la dent (physiques, chimiques ou bactériennes) peuvent altérer la pulpe dentaire (pulpopathies), qui devient plus susceptible à l'invasion bactérienne. Les bactéries peuvent pénétrer dans l'endodonte de différentes façons (Figure 3.22). L'endodonte peut être colonisé par des bactéries d'origine salivaire ou provenant de la plaque dentaire. Puis, l'infection endodontique (nécrose septique) pourra s'étendre aux tissus périapicaux (périodontites périapicales), *via* ce système endocanalaire.

Pénétration des bactéries dans l'endodonte

Caries

La pénétration des bactéries dans la pulpe se fait essentiellement à partir de lésions carieuses. L'extension d'une lésion carieuse primaire en direction pulpaire est la principale cause d'inflamma-

Figure 3.22 : infections endodontiques (IE) et péri-apicales (IP). Voies de pénétration des bactéries dans l'endodonte : 1 = lésion carieuse; 2 = érosion; 3 = restauration non étanche; 4 = fracture; 5 = poche parodontale; 6 = tubuli dentinaires; 7 = circulation sanguine.



tion de la pulpe et de son exposition aux bactéries buccales. Le diamètre des tubules dentinaires étant de $0,1\mu\text{m}$ à la périphérie, seuls les métabolites bactériens (toxines, enzymes...) peuvent diffuser, et éventuellement déclencher une réaction inflammatoire de la pulpe, s'ils ne sont pas refoulés vers l'extérieur par le fluide dentinaire (liquide présent dans les canalicules et dans lequel baignent les prolongements odontoblastiques). Les bactéries buccales (salive, plaque dentaire), dont la taille est de l'ordre du micron, ne peuvent progresser en direction de la pulpe qu'après élargissement des tubules dentinaires, par déminéralisation de la matrice inorganique et dégradation de la matrice organique de la dentine pérītubulaire. Le processus d'infiltration bactérienne, depuis les tubules dentinaires jusqu'au tissu pulpaire, peut s'étaler sur plusieurs mois ou années.

Traumatismes

L'exposition pulpaire directe (fracture) ou indirecte (fissure), suite à un traumatisme dentaire aigu (chutes, agressions, accidents), peut entraîner une nécrose pulpaire septique. Des microtraumatismes

répétés (surocclusions) ou une luxation, avec lésions ou rupture du plexus vasculo-nerveux pulpaire, peuvent conduire à une nécrose ischémique aseptique, suivie, à plus ou moins long terme, d'une contamination bactérienne secondaire.

Les traumatismes chroniques des structures dentaires (érosion, attrition, ou abrasion) peuvent faciliter l'entrée de quelques micro-organismes, suite à l'ouverture des tubules dentinaires. Toutefois, ces micro-organismes peu nombreux sont rapidement maîtrisés par les défenses immunitaires de la pulpe. De plus, l'apposition de dentine réactionnelle compense, en général, la destruction dentinaire, à l'exception des suroclusions et des déplacements orthodontiques trop rapides qui peuvent parfois entraîner des pulpites.

Causes iatrogènes

Au cours de traitements dentaires, certaines procédures peuvent :

- provoquer l'ouverture des tubules dentinaires et éventuellement des canaux accessoires (préparations prothétiques ou cavités profondes, détartrages-surfacages agressifs vis-à-vis du ciment) ;
- créer des pressions favorisant l'invasion bactérienne ou la dissémination des produits bactériens à l'intérieur des tubules, par l'intermédiaire du fluide dentinaire (mise en place de matériaux d'obturation, de fonds de cavités ou de ciments de scellement) ou ;
- léser les vaisseaux du périapex (curetage apical) et entraîner une nécrose pulpaire.

Des restaurations non étanches peuvent favoriser l'infiltration des bactéries par les fluides buccaux. Lors de traitements endodontiques, un manque d'asepsie (absence ou mise en place incorrecte de la digue avec risque de pénétration de salive, instruments mal stérilisés) peut conduire à l'introduction intracanalalaire de micro-organismes buccaux ou autres. Un manque de rigueur dans le protocole de désinfection endocanalalaire peut entraîner des bactéries intracanalales au-delà de l'apex, et déclencher une infection périapicale.

Parodontopathies

Les relations anatomiques étroites entre l'endodonte et le parodonte, *via* les canaux radiculaires principaux et accessoires, peuvent engendrer une infection réciproque de ces deux tissus. Il semble toutefois qu'une atteinte parodontale du foramen apical, exposant les canaux accessoires latéraux et apicaux, soit nécessaire pour induire une contamination de la pulpe saine et conduire à sa nécrose.

Contamination par voie sanguine

Des bactéries véhiculées par le sang (bactériémie) à partir de foyers infectieux aigus ou chroniques présents dans la cavité buccale (poches parodontales, abcès péri-apicaux) peuvent se fixer sur une pulpe se défendant mal, présentant un « *locus minoris resistentiae* » tel qu'une inflammation ou une nécrose partielle aseptique.

Colonisation endocanalalaire

Seules les bactéries possédant certains facteurs de virulence pourront véritablement coloniser l'endodonte et résister aux conditions environnementales.

Cette colonisation dépend d'abord de leur pouvoir d'adhésion aux composants des tissus dentinaires et pulpaires, et/ou aux micro-organismes déjà présents dans l'endodonte. La capacité de liaison des streptocoques oraux à de nombreux composants du tissu pulpaire explique qu'ils soient largement présents dans l'endodonte. En effet, ils peuvent envahir les tubules dentinaires et la matrice extracellulaire de la pulpe grâce à des adhésines capables de se lier au collagène et des adhésines leur permettant de se fixer sur la fibronectine, glycoprotéine majeure du tissu pulpaire. D'autres espèces bactériennes peuvent adhérer aux cellules pulpaires et pénétrer les tissus (*Treponema denticola* peut

adhérer aux fibroblastes). Des agrégations hétérotypiques interbactériennes ont été décrites qui vont permettre à certaines espèces de s'installer. Les streptocoques peuvent se fixer à d'autres genres bactériens ou à des levures (*Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Porphyromonas*, *Veillonella* ou *Candida albicans*) et *Capnocytophaga* avec la plupart des actinomyces.

La croissance des populations bactériennes dépend ensuite des conditions nutritives et de l'oxygénation. La source essentielle de nutriments organiques est constituée par la dégradation du tissu pulpaire, et par les fluides tissulaires (sérum surtout). Ces nutriments varient dans le temps. Les conditions endocanalaire permettent surtout la croissance de bactéries anaérobies capables de fermenter les acides aminés et les peptides. Les bactéries tirant leur énergie de la fermentation des carbohydrates sont moins nombreuses, par manque de nutriments adaptés. Les rares glucides, principalement d'origine sérique, sont d'abord utilisés par les bactéries saccharolytiques à croissance rapide, avec production d'acides lactique et formique. Puis les protéines commencent à être hydrolysées, quelques acides aminés sont fermentés, et les carbohydrates restants (provenant des glycoprotéines sériques) sont utilisés. À ce stade, les espèces bactériennes prédominantes sont *Eubacterium* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* et *Veillonella parvula*. Rapidement, la seule source énergétique disponible est l'hydrolyse des protéines avec fermentation des acides aminés. Les principales espèces bactériennes retrouvées sont alors *Eubacterium* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Micromonas micros*, *Porphyromonas endodontalis* et *Prevotella intermedia*. Les interactions nutritionnelles interbactériennes influencent certaines associations bactériennes. Par exemple, *Porphyromonas* et *Prevotella* utilisent la ménadione produite par les veillonelles. *Porphyromonas gingivalis* utilise le succinate produit par *Capnocytophaga*. Les BPN ou *Bacteroidaceae* à pigmentation noire (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*), mais aussi *Enterococcus* spp., *Fusobacterium*, *Micromonas* et *Treponema denticola* possèdent des protéases dégradant les protéines sériques en peptides et acides aminés, qui peuvent alors être fermentés par d'autres bactéries anaérobies (*Campylobacter rectus* métabolise l'asparagine et l'aspartate pour croître).

Enfin, les bactéries doivent échapper aux systèmes de défense de l'hôte : les bactéries capsulées (*Eikenella*, *Peptococcus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella*) échappent à la phagocytose, celles productrices de protéases peuvent neutraliser les immunoglobulines et certaines protéines anti-inflammatoires.

Destruction des tissus endodontiques

La destruction des tissus endodontiques implique à la fois les bactéries et leurs produits libérés dans le canal, mais aussi la réponse inflammatoire et la réponse immunitaire de l'hôte.

Facteurs de virulence des bactéries

Les facteurs de virulence bactériens impliqués dans la destruction des tissus endodontiques sont essentiellement :

- Les enzymes bactériens protéolytiques ou ayant une action sur la matrice extracellulaire (kératinases, collagénases, pseudo-trypsine, hyaluronidases, chondroitinases, phosphatases acides). Ils favorisent la pénétration tissulaire des micro-organismes en dégradant la matrice organique et en détruisant des complexes immuns. *Porphyromonas gingivalis* possède un ensemble exceptionnel d'enzymes protéolytiques. *Porphyromonas endodontalis* est capable de dégrader des protéines importantes (IgG, IgM, IgA, facteurs du complément...). *Capnocytophaga*, *Peptostreptococcus*, *Treponema denticola* sont également des bactéries protéolytiques.
- Les exotoxines, molécules toxoïdes fortement antigéniques. *Fusobacterium nucleatum*, retrouvé dans toutes les infections endodontiques, possède une toxine induisant une immunosuppression des systèmes de défense de l'hôte.

- Les produits bactériens et métabolites (acide butyrique, acide propionique, polyamines, ammonium, indole, composés soufrés). Ils sont cytotoxiques.

Défenses pulpaire

La pulpe vivante, constituée d'un tissu conjonctif richement vascularisé, présente un réseau de défense humoral et cellulaire permettant de limiter l'invasion bactérienne.

La réponse inflammatoire pulpaire est le premier mécanisme de défense mis en place. Un infiltrat inflammatoire, associé à une prolifération vasculaire et à un dépôt de fibres de collagène, permet la création de tissu cicatriciel en regard d'une lésion carieuse superficielle. L'inflammation localisée de la pulpe est réversible (pulpite subaiguë) et la réparation pulpaire est possible. Mais, si les bactéries ou leurs produits envahissent cette barrière de dentine protectrice, il y a rapidement extension du processus inflammatoire à l'ensemble du tissu pulpaire. L'inflammation devient aiguë, irréversible (pulpite aiguë). En absence de traitement, les lésions tissulaires s'étendent, conduisant à une invasion bactérienne de plus en plus importante. Les différents enzymes lysosomiaux libérés par les PNNs conduisent à une destruction de la matrice extracellulaire, entraînant la formation de pus et de microabcès intrapulpaires (pulpite purulente). À ce stade avancé de l'inflammation, la stase sanguine, provoquée par une pression tissulaire croissante, empêche le renouvellement des défenses (polynucléaires neutrophiles en particulier). La progression bactérienne n'est plus freinée et les germes pyogènes conduisent à la liquéfaction de l'ensemble du tissu pulpaire et à la nécrose pulpaire, ou nécrose de liquéfaction.

La pulpite chronique (Figure 3.23) est caractérisée histologiquement par une fibrose importante qui forme une barrière à l'envahissement bactérien, une vasodilatation capillaire et un infiltrat lymphocytaire et macrophagique dans la pulpe proche de la lésion.

Figure 3.23 : *pulpite chronique hyperplasique (polype pulpaire) (cas clinique Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).*



Les infections périapicales

En absence de traitement, la présence de bactéries dans la pulpe se traduit à terme par une infection périapicale. Selon la nature des bactéries présentes dans l'endodonte et l'amplitude de la réaction

immunitaire de l'hôte, les manifestations cliniques et histopathologiques des infections périapicales prendront une forme aiguë ou chronique. Les facteurs génétiques microbiens contrôlant la virulence, ainsi que la réponse de l'hôte (susceptibilité), constituent des éléments importants dans l'évolution de ces lésions.

Formes aiguës

Les bactéries présentes dans le canal (ou leurs produits) vont initier une réponse aiguë, intense et de courte durée, caractérisée par différents signes inflammatoires : hyperhémie, congestion vasculaire, œdème desmodontal, extravasation de polynucléaires neutrophiles. Dans certains cas, une résorption osseuse peut apparaître. Les germes ayant atteint le périapex seront contenus par le recrutement de polynucléaires neutrophiles et de monocytes. Dès lors, la mise en place d'une réaction immunitaire aboutit à des destructions cellulaires importantes, à une dégradation des constituants matriciels conjonctifs entraînant la formation d'un abcès apical. Les cellules et les médiateurs de l'inflammation agissent en synergie pour détruire les pathogènes (et leurs produits), mais sont aussi fortement impliqués dans l'établissement des lésions tissulaires périapicales. En effet, bien que les micro-organismes produisent diverses protéases, les destructions tissulaires sont essentiellement liées à l'activité de synthèse des cellules de l'hôte. Toutes les lésions périapicales sont caractérisées par la persistance d'un exsudat contenant un nombre important de cellules de l'immunité : des polynucléaires, des macrophages, des lymphocytes, des plasmocytes, des mastocytes ou des cellules NK. Le rapport entre les différents types cellulaires varie au cours du temps. Les polynucléaires neutrophiles semblent prédominer dans les phases aiguës de l'infection, alors que la quantité de macrophages et de lymphocytes B et T est plus importante dans les infections chroniques. Néanmoins, les lymphocytes B et T restent les cellules prédominantes dans les infections périapicales.

L'évolution de l'abcès peut se faire vers la fistulisation, c'est-à-dire le drainage spontané des exsudats inflammatoires (Figure 3.24). Mais, si la réponse de l'hôte est insuffisante, les bactéries peuvent continuer leur multiplication et s'étendre dans les tissus oraux environnants. L'infection peut être circonscrite aux tissus mous (cellulite, figure 3.25) ou s'étendre aux tissus osseux (ostéite, figure 3.26). À ces phénomènes s'ajoute une activation continue des macrophages qui produisent des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF- α) exacerbant le tableau clinique (œdème, douleurs, fièvre). Toutefois, le passage dans la circulation sanguine (septicémie) reste un phénomène rare.

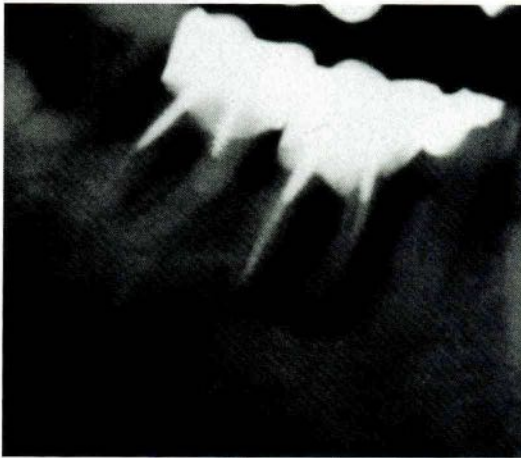
Figure 3.24 : abcès périapical avec fistule (cas clinique Dr JC. Maurin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Figure 3.25 : cellulite génienne basse (cas clinique Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Figure 3.26 : ostéite au niveau de la première molaire mandibulaire (cas clinique Dr C. Ribaux - Lyon).



Formes chroniques

Les lésions chroniques, souvent décelées fortuitement lors d'examens radiographiques, sont le résultat d'une réponse inflammatoire de défense des tissus périapicaux face à la dissémination des micro-organismes ou de leurs métabolites dans la région périapicale. Elles sont essentiellement dues à la persistance de bactéries peu virulentes dans la partie apicale du canal radiculaire ou de la couche cémentaire nécrotique. Il en résulte souvent la formation d'un granulome (Figure 3.27) qui contient des fibroblastes, des cellules endothéliales, des cellules inflammatoires et immunitaires (lymphocytes, macrophages). Ce granulome n'est pas une barrière étanche contre l'infection car il est vascularisé, et les produits microbiens peuvent passer dans la circulation générale. Il délimite toutefois la zone d'infection et permet aux défenses de l'hôte de se mettre en place. Au sein de la lésion, des phénomènes ostéoclasiques se produisent, en réponse aux différents médiateurs sécrétés. Le granulome constitue un équilibre entre les agresseurs bactériens présents dans le canal dentaire et les systèmes de défense de l'hôte. Cet équilibre reste fragile, car l'avancée des bactéries au-delà du périapex peut le rompre à

tout moment. Ainsi, des « flambées infectieuses » sont observées au cours de traitements endodontiques pour conduire à une exacerbation aiguë et à la formation d'un abcès secondaire avec destruction osseuse périapicale importante (Figure 3.28). Le risque d'épisodes infectieux aigus en cours de traitement semble plus élevé sur pulpes nécrotiques que sur pulpes vitales. De plus, l'élargissement du foramen apical entraîne une augmentation de l'afflux sanguin et un apport de nutriments nécessaires à la survie des bactéries. Le développement rapide des micro-organismes dans les tissus périradiculaires entraîne une réaction inflammatoire aiguë dont l'intensité dépend du nombre et de la virulence des micro-organismes extrudés. Ces lésions chroniques peuvent s'étaler sur de nombreuses années avec une alternance de poussées inflammatoires aiguës de courte durée. Certains granulomes peuvent évoluer en kystes, caractérisés par une expansion et une résorption osseuse très importantes (Figure 3.29).

Figure 3.27 : granulome apical (cas clinique Dr JC. Maurin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).

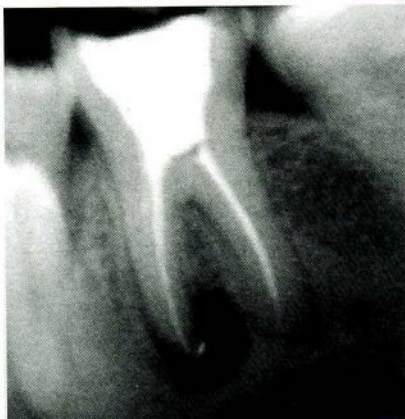
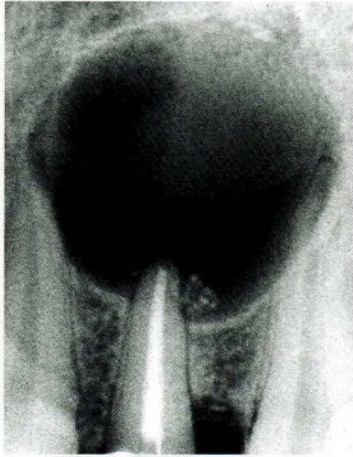


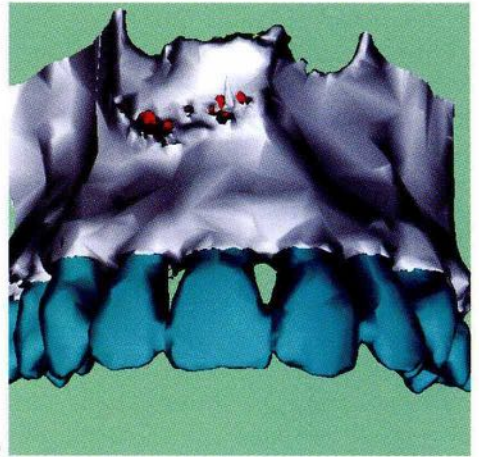
Figure 3.28 : destruction osseuse périapicale lors d'un abcès au niveau des incisives supérieures (cas clinique Dr JC. Maurin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Figure 3.29 : kyste dentaire radulaire. a) image radiotransparente bien délimitée d'un kyste volumineux sur la 12 (cas clinique Dr C. Ribaux - Lyon). b) image tridimensionnelle montrant une déformation de l'os par un kyste très volumineux (cas clinique Pr. JL. Coudert - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



a



b

Flore des infections endodontiques et périapicales

Les nombreuses études effectuées chez l'homme et l'animal ont démontré l'implication des bactéries dans les infections endodontiques et dans le développement des pathologies périapicales. Des lésions périapicales sur des dents de rats axéniques dont la pulpe dentaire avait été en contact avec des micro-organismes buccaux ont été observées. Il a été montré qu'une périodontite apicale avec résorption osseuse ne peut se développer qu'à partir d'une nécrose pulpaire septique mais pas à partir d'une pulpe nécrobiosée aseptique.

Bien que des agents infectieux comme des levures (*Candida*), ou des virus (*Cytomegalovirus*, *Epstein-Barr*) aient été détectés dans les canaux radiculaires infectés, les bactéries et leurs produits dérivés (composants bactériens, métabolites, toxines...) sont les causes majeures des maladies pulpaire et péri-apicales.

Les différentes études ont montré à la fois l'importance de la charge microbienne dans le développement des mécanismes pathogéniques, mais aussi une certaine spécificité de la flore bactérienne pour les différentes formes cliniques des maladies périapicales. Une coopération bactérienne semble également indispensable pour entraîner une synergie pathogène et créer des dommages tissulaires. Sur plus de 500 taxons colonisant la cavité buccale, une centaine d'espèces bactériennes a été isolée à partir de canaux infectés. Mais, chaque canal infecté présente individuellement une combinaison de 5 à 30 espèces en moyenne, et le nombre de bactéries varie entre 10^2 et 10^8 . D'autre part, l'évolution permanente de l'environnement endodontique crée une pression sélective sur la flore microbienne présente. Seules survivent les espèces microbiennes capables de s'adapter à des variations du milieu canalaire comme la diminution de la concentration en oxygène, les modifications du potentiel d'oxydo-réduction, du pH ou de la température, les nutriments disponibles, la résistance de l'hôte et les interactions microbiennes. La composition de la flore bactérienne dépend du type d'infection, lié ou non à des lésions péri-apicales. Elle varie également en fonction du temps (Tableau 3.17).

Tableau 3.17 : principaux genres bactériens isolés à partir d'infections endodontiques ou périapicales. Les spirochètes (*Treponema*) sont inclus dans les bacilles anaérobies stricts à Gram négatif afin de simplifier le tableau.

Pathologies site de prélèvement		Gram+		Gram-	
		Aérobies et anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts	Aérobies et anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts
Nécrose pulpaire	Pulpe ouverte	<i>Actinomyces</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Treponema</i> ^m <i>Veillonella</i>
	Pulpe fermée		<i>Actinomyces</i> <i>Eubacterium</i> <i>Micromonas</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Campylobacter</i> ^m <i>Capnocytophaga</i> ^m	<i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Treponema</i> ^m
	Lésions endo-paro		<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Campylobacter</i> ^m	<i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i>
Infection périapicale	Desmodontites		<i>Eubacterium</i> <i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Campylobacter</i> ^m	<i>Porphyromonas</i>
	Granulomes				<i>Actinomyces</i> <i>Treponema</i> ^m
	Abcès	<i>Streptococcus</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Micromonas</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Campylobacter</i> ^m	<i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Selenomonas</i> ^m <i>Treponema</i> ^m
	Cellulites	<i>Actinomyces</i>	<i>Actinomyces</i>		<i>Treponema</i> ^m
	Ostéites et alvéolites	<i>Staphylococcus</i>			<i>Prevotella</i>
	Canal radiculaire	<i>Actinomyces</i> <i>Gemella</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Eubacterium</i> <i>Micromonas</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Capnocytophaga</i> ^m	<i>Fusobacterium</i> <i>Prevotella</i> <i>Treponema</i> ^m <i>Veillonella</i>
Infection après traitement	Asymptomatique	<i>Actinomyces</i> <i>Enterococcus</i> ^{vm} <i>Streptococcus</i>			
	Symptomatique	<i>Enterococcus</i> ^{vm} <i>Staphylococcus</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Eubacterium</i> <i>Micromonas</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Escherichia</i> <i>Pseudomonas</i> sm	<i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i>

vm = quelquefois mobile ; m = bactéries mobiles ; mobilité par saccades

Flore des infections endocanalaire sans lésions périapicales (nécrose pulpaire)

La flore présente dans les infections endocanalaire primaires est en général polymicrobienne et mixte. Elle est caractérisée par une grande variété de combinaisons bactériennes, en moyenne 4 à 7 espèces par canal, surtout anaérobies, comprenant des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cette flore varie selon la localisation endocanalaire (coronaire ou apicale) et dans le temps (dérive anaérobie). Les genres/espèces bactériens le plus fréquemment isolés des pulpes nécrotiques sont : *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Dialister pneumosintes*, *Eubacterium*, *Filifactor alocis*, *Fusobacterium*, *Micromonas*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Streptococcus* et des spirochètes. Pour certains, les spirochètes représentent 6% de la flore des canaux radiculaires nécrosés.

Lorsque la chambre pulpaire est ouverte, suite à l'évolution d'une lésion carieuse, le système endocanalaire est en contact avec le milieu buccal et les bactéries de la plaque dentaire et de la salive s'y installent. La flore est majoritairement composée de bactéries microaérophiles ou anaérobies facultatives. Les streptocoques oraux constituent le groupe le plus important (60 %) : *Streptococcus anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*. *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Staphylococcus aureus* ont également été isolés. La flore devient de plus en plus anaérobie stricte dans la partie apicale des canaux avec, en particulier, des BPN (*Porphyromonas endodontalis* et *Prevotella intermedia*), *Fusobacterium nucleatum*, des veillonelles, *Peptostreptococcus* et des spirochètes.

Lorsque la chambre pulpaire est fermée, la flore est moins abondante, et en majorité anaérobie stricte (80 %). Les micro-organismes le plus fréquemment isolés sont : *Actinomyces*, *Anaerococcus prevotii*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Micromonas micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas* et *Prevotella* (espèces pigmentées ou non) et des spirochètes.

Dans le cas de lésions endo-parodontales, ce sont essentiellement des bactéries parodontopathiques qui ont été retrouvées dans l'endodonte, en particulier des BPN, mais aussi *Campylobacter*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptococcus* et *Peptostreptococcus*.

Flore des infections endocanalaire avec lésions périapicales

La flore des canaux infectés de dents présentant des lésions périapicales est souvent identique à celle des abcès, des granulomes et des kystes. Elle est composée à 87 % d'espèces anaérobies (Figure 3.30). Les plus régulièrement retrouvés sont *Actinomyces* (*A. israelii*, *A. meyeri*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*), *Anaerococcus prevotii*, *Bifidobacterium* spp., *Capnocytophaga* spp., *Eubacterium* spp., *Fusobacterium* (*F. necrophorum*, *F. nucleatum*), *Gemella morbillorum*, *Micromonas micros*, *Prevotella* (*P. buccae*, *P. intermedia*, *P. oralis*), *Propionibacterium acnes*, *Streptococcus* (*S. constellatus*, *S. mitis*), *Treponema* spp., *Veillonella* spp. et *Candida albicans*. Des techniques moléculaires (PCR = amplification par réaction en chaîne de la polymérase) ont permis de montrer la présence d'une grande diversité d'espèces de tréponèmes. Leur nombre est significativement plus important (61 %) que dans les canaux infectés sans lésion périapicale (37 % dans les nécroses pulpaire). *T. socranskii* est l'espèce la plus fréquemment retrouvée, suivie par *T. denticola*, *T. maltophilum*, *T. pectinovorum* et *T. vincentii*. Les spirochètes produisent de nombreux enzymes protéolytiques, hémolysines, estérases, collagénases, phospholipase C et des enzymes dégradant l'acide hyaluronique et la chondroïtine sulfate, ce qui explique leur présence abondante dans ces pathologies périapicales.

De plus, le microbiota des canaux radiculaires de dents asymptomatiques semble différent de celui des dents symptomatiques (Tableau 3.18). La flore bactérienne isolée à partir de canaux infectés de dents présentant des lésions périapicales sans signes cliniques ni symptômes est composée surtout

d'anaérobies stricts (64 % à 87 %), avec prédominance d'*Actinomyces odontolyticus*, *Micromonas micros*, *P. intermedia*. Des corrélations ont été établies entre la présence de signes cliniques/radiographiques (douleur ou passé douloureux, sensibilité à la percussion, œdème, fistulisation, exsudation canalaire, image périapicale radioclaire) et l'isolement de certaines espèces : *Eubacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Micromonas* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Porphyromonas* (*P. endodontalis*, *P. gingivalis*), *Prevotella* (*P. buccae*, *P. melaninogenica*) et les spirochètes. Ces bactéries, essentiellement à Gram négatif, contiennent des endotoxines pouvant stimuler la production de bradikinine, puissant médiateur de la douleur. Une explication de la synergie entre *M. micros* et *Prevotella* spp. est l'accroissement de l'effet de l'endotoxine par les superantigènes Gram-positifs.

Tableau 3.18 : microbiota de canaux infectés de dents présentant des lésions périapicales primaires ou secondaires*, associés ou non à la présence de certains signes cliniques/radiographiques.

Signes	Micro-organismes prédominants
Douleur aiguë ou passé douloureux	<i>Eubacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> *, <i>Micromonas micros</i> , <i>Peptostreptococcus</i> *, <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella intermedia/nigrescens</i> *
Sensibilité à la percussion	<i>Fusobacterium</i> , <i>Micromonas</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Porphyromonas</i> spp., et <i>Prevotella intermedia/nigrescens</i> *
Œdème	<i>Enterococcus</i> , <i>Micromonas</i> et <i>Porphyromonas</i> spp.
Fistulisation	<i>Enterococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> et <i>Porphyromonas</i>
Exsudation canalaire +/- purulente	<i>Fusobacterium</i> , <i>Micromonas</i> , <i>Peptostreptococcus</i> et <i>Porphyromonas</i> spp.
Image périapicale radioclaire	<i>Micromonas micros</i>
Aucun signe clinique ni symptôme	<i>Actinomyces odontolyticus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Micromonas micros</i> , <i>Prevotella</i> (<i>P. intermedia</i> , <i>P. oralis</i>) et <i>Veillonella</i>

Flore des lésions périapicales

Un certain nombre d'associations bactériennes paraissent faire l'unanimité concernant le microbiota des lésions périapicales.

Une synergie BPN (*Porphyromonas endodontalis* et *Porphyromonas gingivalis*), *Campylobacter*, *Eubacterium*, *Peptococcus* et *Peptostreptococcus* semble nécessaire au déclenchement d'une desmodontite.

Des spirochètes et quelques actinomyces ont été retrouvés dans des granulomes.

Concernant les abcès périapicaux, 100 % des cultures sont positives et constituées surtout d'anaérobies (70 %). *Actinomyces* (*A. israelii*, *A. meyeri*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*), *Fusobacterium* spp., *Micromonas micros*, *Peptostreptococcus* spp., *Porphyromonas* spp. (*P. gingivalis* et *P. endodontalis*), *Prevotella* (surtout *P. intermedia*, *P. melaninogenica* et *P. nigrescens* mais aussi *P. buccae*, *P. oralis*, *P. oris*) et *Treponema* (*T. denticola*, *T. maltophilum*, *T. pectinovorum*, *T. socranskii*, *T. vincentii*) sont les micro-organismes majoritaires des abcès dentaires. D'autres micro-organismes ont été isolés à partir d'abcès dentaires : *Actinomyces* (*A. dentalis* et *A. oricola*), *Gemella morbillorum*, *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. acidophilus*), *Propionibacterium* (*P. acnes*, *P. propionicus*), *Streptococcus anginosus*, ainsi que certaines espèces mobiles, comme *Campylobacter* spp. et *Selenomonas* spp.

Enfin, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Prevotella intermedia* ont été impliqués dans les ostéites péri-implantaires, *Prevotella intermedia* dans les alvéolites, *Actinomyces israelii* dans les actinomycoses, *Actinomyces* (*A. naeslundii*, *A. israelii*) et *Treponema* (*T. denticola*, *T. maltophilum*, *T. pectinovorum* et *T. vincentii*) dans les cellulites.

Flore des infections endodontiques et périapicales en échec thérapeutique (infections dites secondaires)

Il s'agit soit :

- de bactéries qui étaient présentes dans le canal infecté, et qui persistent dans des zones anatomiques difficilement accessibles à l'instrumentation et aux solutions d'irrigation (irrégularités du ciment de la zone apicale, dentine tubulaire, canaux aberrants). Elles échappent donc aux défenses de l'hôte, en particulier à la phagocytose, et au traitement endocanalaire ;
- de bactéries qui étaient absentes des canaux infectés et ont pénétré le système endocanalaire à la suite d'une rupture de la chaîne d'asepsie lors du traitement : bactéries de la cavité buccale ou de lésions carieuses persistantes sur la couronne ou encore bactéries provenant d'instruments endodontiques mal stérilisés, ou de solutions d'irrigation intracanaulaire contaminées.

Les modifications environnementales (pH, potentiel d'oxydo-réduction, températures, concentration en oxygène) créées à la suite du traitement pourraient sélectionner certains micro-organismes, capables de survivre dans ces nouvelles conditions. Les bactéries persistantes ou leurs produits maintiennent un processus infectieux qui conduit à l'échec du traitement. Des bactéries anaérobies facultatives peuvent survivre un certain temps en phase quiescente avec une faible activité métabolique. Des facteurs, tels qu'une infiltration coronaire, peuvent changer les conditions nutritionnelles et contribuer à la croissance bactérienne.

La flore associée aux lésions périapicales, résistante aux traitements conventionnels, est peu abondante et généralement peu diversifiée (1 ou 2 espèces par canal), dominée par des bactéries anaérobies facultatives (60%-69 %) à Gram positif (83 %). *Actinomyces*, *Enterococcus* et *Streptococcus* seraient les trois genres le plus fréquemment isolés à cause de leur résistance à l'instrumentation et aux agents antiseptiques utilisés au cours du traitement. Ils persistent donc plus fréquemment après une préparation et une obturation canalaires inadéquates. Parfois *Enterococcus faecalis* est la seule espèce isolée. Selon différentes études, *Enterococcus faecalis* ne représente qu'un très faible pourcentage de la flore endodontique originelle, mais a été isolé dans plus de 50 % des canaux infectés présentant un échec au traitement endodontique. Il est sélectionné par les modifications de son environnement au cours des traitements endodontiques et conduit à une infection difficile à éradiquer. Cette espèce est en effet capable de survivre dans un environnement pauvre en nutriments et sans la coopération des autres micro-organismes de la flore bactérienne commensale. Les facteurs de virulence de *Enterococcus faecalis* entraînant un échec de traitements pourraient être la conservation de sa capacité d'invasion des tubules dentinaires et d'adhérence aux fibres de collagène en présence de sérum humain. De plus, les thérapeutiques antibactériennes utilisées en cours de traitement (comme l'hydroxyde de calcium mis en place dans le système endocanalaire) resteraient sans effet car *Enterococcus faecalis* a la capacité de survivre dans des conditions de pH relativement élevées.

Cette flore semble différente lorsque les lésions sont symptomatiques. Des infections polymicrobiennes avec présence de nombreux anaérobies stricts sont fréquemment retrouvées. De la même façon que pour les infections primaires, des corrélations ont été rapportées entre la présence d'anaérobies et certains symptômes cliniques alors que les streptocoques oraux et les bactéries entériques étaient fréquemment isolés de dents asymptomatiques. La flore des infections endocanalaire secondaires, symptomatiques est dominée par la présence de : *Actinomyces* (*A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. radicidentis*), *Eubacterium*, *Fusobacterium* (*F. necrophorum*, *F. nucleatum*), *Micromonas micros*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Propionibacterium* mais aussi d'entérocoques (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*), de germes de l'environnement (*Pseudomonas aeruginosa*), de germes cutanés (*Staphylococcus aureus*) et de levures (*Candida albicans*).

Diagnostic bactériologique

Le diagnostic bactériologique des infections endodontiques et périapicales n'est pas effectué en routine avant d'entreprendre le traitement de ces infections. En effet, les traitements locaux (obturation du système endocanalair, chirurgie endodontique, avulsion de la dent), associés ou non à une antibiothérapie systémique, permettent dans la majorité des situations d'obtenir la guérison. Le diagnostic microbiologique pourrait toutefois présenter un intérêt dans le traitement des infections réfractaires persistantes. Mais, les difficultés rencontrées lors des prélèvements endocanalaire ou péri-apicaux (présence fréquente de contaminants provenant de la salive, d'une cavité carieuse, du biofilm dentaire) ou au cours de la mise en culture des bactéries anaérobies et de leur identification sont assez dissuasives. Une approche moléculaire s'est développée, souvent associée à une amplification génomique (séquences d'ADNr 16S-PCR, PCR multiplex...), mais aucune méthode n'est actuellement capable de répertorier et de quantifier chaque micro-organisme présent dans l'endodonte. Toutefois, grâce à leur sensibilité, ces techniques permettent de détecter certaines espèces présentes en très faible quantité, difficilement ou non cultivables (viabiles non cultivables), dans des infections endocanalaire, réfractaires ou non aux traitements conventionnels : *Actinomyces radicidentis*, *Dialister pneumosintes* (ex-*Bacteroides*), *Filifactor alocis* (ex-*Fusobacterium*), *Propionibacterium propionicus*, *Pseudoramibacter alactolyticus* (ex-*Eubacterium*), *Tannerella forsythia* (ex-*Bacteroides*) et différentes espèces de *Treponema*. Bien qu'aucune corrélation entre la forme clinique des lésions et l'implication de ces espèces n'ait été établie à ce jour, ces nouvelles techniques pourraient permettre une meilleure connaissance de la biodiversité du microbiota des infections endodontiques et périapicales, et donc mettre en œuvre le traitement le plus approprié.

Traitement et prévention

Traitement endodontique

La situation des micro-organismes, enfouis au sein du système endocanalair, rend inaccessible leur éradication complète par les systèmes de défense de l'hôte. Aucune guérison spontanée n'est alors possible, et un traitement de l'endodonte s'impose. Il repose sur la préparation du système endocanalair pour le rendre apte à recevoir une obturation tridimensionnelle étanche.

Le premier temps du traitement comprend la mise en forme et la désinfection chimique du système canalair. La solution désinfectante la plus utilisée est l'hypochlorite de sodium à 5 %.

Le deuxième temps du traitement endodontique est l'obturation canalair, remplissage hermétique, stable et durable, qui permet d'isoler le système canalair du milieu buccal et du parodonte profond. Les bactéries résiduelles ne pourront plus se développer, le scellement du canal empêchant la diffusion de produits organiques. Son rôle est de pérenniser l'assainissement obtenu afin de prévenir tout risque de récurrence et obtenir la cicatrisation apicale.

Toutefois, si le traitement nécessite plusieurs séances, le remplissage du système canalair par de l'hydroxyde de calcium entre les séances est indispensable. En effet, le traitement chimio-mécanique élimine les bactéries et les nutriments présents, mais entre 2 séances de traitement, le canal est obturé par un pansement, l'anaérobiose partiellement restaurée, et un influx de fluide tissulaire dans le canal peut permettre à nouveau la croissance des bactéries résiduelles. *Actinomyces israelii* et *Enterococcus faecalis* sont les espèces le plus fréquemment retrouvées dans les lésions périapicales réfractaires au traitement (infections secondaires), et sont de mauvais pronostic pour le succès d'un retraitement. Un traitement antibiotique (amoxicilline, érythromycine, clindamycine) de 7 jours est insuffisant, 2 à 6 semaines de traitement sont parfois requises, la lyse cellulaire induite par les antibiotiques étant très lente chez certaines souches d'*Actinomyces*. Il est très important de neutraliser ces bactéries dès

l'infection primaire car elles sont vulnérables à une éradication par une perturbation de leur écologie. En effet, elles sont peu nombreuses et avec d'autres espèces. Alors que, lors d'une récurrence d'infection (infection secondaire), elles sont pratiquement les seules espèces présentes. Le taux de succès d'un traitement endocanalair varie de 85 % à 96 % selon les auteurs, mais le succès d'un retraitement de dents présentant une lésion périapicale est plus faible (66 %), à cause de la difficulté d'éliminer la microflore particulière des échecs thérapeutiques.

Antibiothérapie

La plupart des infections endodontiques ne nécessitent pas d'antibiothérapie. L'absence de circulation sanguine dans les tissus nécrotiques ne permet pas aux antibiotiques d'atteindre et d'éliminer les micro-organismes présents dans le système endocanalair. L'antibiothérapie doit être instaurée uniquement lors de manifestations cliniques périapicales aiguës (abcès périapical) sans drainage possible, lors de complications (cellulites, ostéites) ou s'il y a aggravation rapide des signes et symptômes (fièvre, diffusion de l'infection, adénopathies, malaise...). En présence d'une collection purulente, le drainage de l'abcès (voie canalaire, alvéolaire, muqueuse/cutanée) est impératif « *ubi pus ibi evacuet* », l'antibiothérapie accompagne le geste local mais ne le remplace pas.

Conformément aux recommandations de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS), 2001, la monothérapie est la règle, même si ces infections sont polymicrobiennes (Tableau 3.19). Les antibiotiques recommandés en première intention sont les pénicillines, en particulier l'amoxicilline, et en cas d'allergie aux pénicillines, les macrolides, le métronidazole seul ou associé à la spiramycine, la pristinamycine ou la clindamycine.

Les pénicillines, en particulier l'amoxicilline, sont les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections endodontiques, car les études montrent que plus de 90 % des micro-organismes isolés dans les abcès dentaires y sont sensibles. En cas d'échec (aggravation des symptômes au bout de 48 à 72 heures), l'association amoxicilline - acide clavulanique est recommandée en deuxième intention, car elle est efficace sur les éventuels germes producteurs de β -lactamases, comme certaines souches de *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella oralis*.

La clindamycine est efficace sur de nombreuses bactéries anaérobies, dont les *Prevotella* et sur les anaérobies facultatifs comme les *Staphylococcus*, deux genres bactériens particulièrement impliqués dans les ostéites. Précisément, la distribution tissulaire de la clindamycine dans les tissus oraux, et plus particulièrement dans le tissu osseux lésé lui permet d'être un antibiotique de choix dans le traitement des complications osseuses (ostéites). En raison des effets néfastes sur la flore gastro-intestinale, la clindamycine reste une thérapeutique de seconde intention dans le traitement des abcès périapicaux, lors d'échecs d'une antibiothérapie de première intention.

L'érythromycine ou l'azithromycine ou la spiramycine sont souvent utilisées avec succès comme une thérapeutique alternative chez les patients allergiques aux pénicillines. L'azithromycine serait la plus efficace dans le traitement des abcès périapicaux.

Le métronidazole (et d'autres imidazolés : ornidazole et tinidazole) a une action intéressante sur les bacilles anaérobies à Gram négatif producteurs de β -lactamases. Son action est excellente sur *Fusobacterium nucleatum* et *Porphyromonas* spp. (pigmentées et non pigmentées), et il est actif sur la plupart des *Prevotella* spp. (quelques souches de *P. intermedia* résistantes sont décrites). Son efficacité est mauvaise sur *Actinomyces*, *Enterococcus*, *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus*, *Streptococcus* spp. pourtant largement présents dans les infections endodontiques. Il est alors le plus souvent utilisé avec succès en association avec la spiramycine.

Dans certains cas sévères (fièvre, altération de l'état général, immunodéficience importante, diffusion cervicale ou médiastinale de l'infection...), l'hospitalisation s'impose.

Tableau 3.19 : spectre usuel des antibiotiques sur les principaux germes pathogènes impliqués dans les infections périapicales (sources = AFSSAPS 2001, dossiers ADF 2004, VIDAL 2005). S = sensible; R = résistant; I = intermédiaire; *résistance décrite d'après l'AFSSAPS, juillet 2001. La fréquence de résistance acquise en France est indiquée entre parenthèses (d'après l'AFSSAPS, juillet 2001 et/ou le VIDAL 2005).

	β-lactamines	Amoxicilline+ ac. clavulanique	Macrolides Azithromycine Erythromycine	Imidazoles	Lincosamines Clindamycine	Streptogramines Pristinamycine	Cyclines Doxycycline	Fluoroquinolones Ciprofloxacine
Bacilles à Gram+								
<i>Actinomyces</i>	S	S	S	R	S*	S	S*	R
<i>Eubacterium</i>	S	S	S*	S (20-30 %)	S*	S	S*	
<i>Propionibacterium acnes</i>	S	S	S*	R	S (5-15 %)	S	S*	S (5-10 %)
Bacilles à Gram-								
<i>Campylobacter</i>	R	S	S	R	S		S	S
<i>C. rectus</i>	S*	S*	S	R	S		(> 10 %)	(0-80 %)
<i>Capnocytophaga</i>	S*	S	S*	R	S	S	S	
<i>Escherichia coli</i>	S (30-50 %)	S (10-30 %)	R		R	R	S (20-40 %)	S (0-10 %)
<i>Fusobacterium</i>	S*	S	R	S	S*	S	S (> 10 %)	R
<i>P. gingivalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>P. intermedia/nigrescens</i>	S (60-70 %)	S	S	S*	S	S	S (> 10 %)	
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R		R	R	R	S (1-45 %)
<i>Selenomonas</i>	S (> 10%)	S	S (> 10%)	S	S		S	S
Cocci à Gram+								
<i>Enterococcus faecalis</i>	S	S	S (50-70 %)	R	R	R	S (40-80 %)	R
<i>Micromonas micros</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	S*	S (> 10%)	S*		R			
<i>Peptostreptococcus</i>	S	S	S (30-40 %)	S*	S (20-30 %)	S	S (> 10 %)	S (25-30 %)
<i>Staphylococcus méti-S</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
<i>Staphylococcus méti-R</i>	R	R	S (70-80 %)	R	S (70-80 %)	S	S (70-80 %)	R
<i>Streptococcus</i>	S	S	S (30-40 %)	R	S (30-40 %)	S	S/R	I
Spirochètes								
<i>Treponema</i>	S	S	S				S	

Prévention

La prévention des risques d'échec des traitements endodontiques commence par la mise en place de protocoles opératoires rigoureux et nécessite l'obtention d'une obturation canalaire étanche qui doit être évaluée cliniquement et radiographiquement.

Les risques de contamination secondaires seront évités par un respect scrupuleux de la chaîne de stérilisation des instruments endodontiques. Toutes les voies possibles de contamination secondaires devront être également anticipées.

Références bibliographiques

ADF : Dossier « Comprendre et prendre en charge le traitement antibiotique des infections bucco-dentaires », 2004.

AFSSAPS : *Prescription des antibiotiques en Odontologie et Stomatologie*, 2001.

Baumgartner JC., Khemalelakul SU : Identification of Spirochètes (Treponèmes) in Endodontic Infections. *J of Endodon* 2003; 29 : 794-797.

Dahlen G : Microbiology and treatment of dental abscesses and periodontal-endodontic lesions. *Periodontol* 2000, 2002; 28 : 206-39.

Fejerskov O : Changing paradigms in concepts on dental caries : consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38 : 182-191.

Freney J, Renaud F, W. Hansen et C. Bollet (eds.) : *Précis de Bactériologie Clinique*. Éditions Eska, 2000.

Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gadé-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ : Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol immunol* 2004; 19 : 71-76.

Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster JS and Palmer RJ : Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66 : 486-505.

Kuramitsu HK and Ellen RP : *Oral Bacterial Ecology - The molecular basis*. Editions horizon Scientific press, 2000.

Le Breton G : *Traité de sémiologie et clinique odonto-stomatologique*. Édition CdP, 1997.

Marthaler TM : Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004; 38 : 173-181.

Mouton C et Robert JC : *Bactériologie bucco-dentaire*. Éditions Masson, Paris, 1994.

Piette E et Goldberg M. : *La dent normale et pathologique*. Éditions DeBoeck Université, 2001.

Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho F : Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* 2003 : 36 : 1-11.

Siqueira JF Jr : Endodontic infections : concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94 : 281-93.

Smith DJ : Caries vaccines for the twenty-first century. *Journal of Dental education* 2003; 67 (10) : 1130-1139.

Tenovou J : Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community dent Oral Epidemiol* 1997; 25 : 82-86.

Vidal 2005 - Le dictionnaire - 81^e édition, 2005.

Zero DT : Sugars - The arch criminal? *Caries Res* 2004; 38 : 277-285.

Les infections du parodonte

Les maladies parodontales (O. Barsotti, PP. Poulet)

Le parodonte

Le parodonte est composé de quatre tissus qui entourent et soutiennent la dent : la gencive, l'os parodontal, le ligament alvéolo-dentaire ou ligament parodontal ou desmodonte et le ciment. La gencive est constituée d'un tissu conjonctif recouvert d'un épithélium kératinisé (épithélium buccal de la gencive marginale) ou d'épithélia non kératinisés (épithélium de jonction et épithélium sulculaire), donc plus fragiles et plus perméables. Le repli que forme la gencive marginale en se fixant sur la dent est appelé sillon gingivo-dentaire ou sulcus. Sa profondeur moyenne est de 2 mm. La fixation sur la dent se fait à la jonction entre la couronne dentaire, la racine, l'os et la gencive, par un système d'attache épithélio-conjonctive qui évite le risque de communication entre la cavité buccale et l'os. Le sillon gingivo-dentaire est constamment baigné par un flux liquidien passant au travers de l'épithélium de jonction, le fluide gingival. Il s'agit d'un transsudat sérique, provenant des nombreux capillaires gingivaux, osseux et desmodontaux présents autour de la racine dentaire. C'est un processus physiologique continu qui est augmenté en cas de gingivite et de parodontite (on parle d'exsudat sérique en cas d'inflammation). Le ligament parodontal (desmodonte) est un tissu conjonctif situé entre l'os alvéolaire (partie interne de l'alvéole dentaire) et le ciment. Il subit un remaniement constant, alternant des périodes de synthèse et de dégradation du collagène desmodontal, lui permettant de s'adapter aux variations environnementales (hypofonction, hyperfonction...). Le ciment et l'os parodontal sont des tissus conjonctifs minéralisés. Le ciment, via le ligament parodontal, relie la dent à la paroi alvéolaire osseuse. Il recouvre la racine dentaire et sert de support aux fibres de collagène desmodontales. Il aurait un rôle important au cours de la cicatrisation des lésions parodontales. L'os parodontal comprend des alvéoles dans lesquelles sont logées les racines dentaires. La paroi interne des alvéoles est appelée la corticale ou la table interne (procès alvéolaire, lame cribliforme) et la paroi externe est appelée corticale ou table externe. Cet os parodontal est en perpétuel remaniement physiologique avec une alternance de phase de résorption ostéoclastique et d'apposition ostéoblastique.

Définition des maladies parodontales

Les maladies parodontales sont des maladies infectieuses, de type mixte, à prédominance anaérobie. Ce sont des maladies multifactorielles, dues à un déséquilibre de l'écosystème buccal. Elles sont classiquement divisées en gingivites et parodontites.

Les gingivites infectieuses sont des réactions inflammatoires, non spécifiques, réversibles de la gencive marginale, en réponse à une augmentation du nombre de bactéries (à Gram négatif et/ou à Gram positif) présentes au niveau des sulci.

Les parodontites sont le résultat d'une réponse inflammatoire (aiguë ou chronique) des tissus plus profonds du parodonte (os parodontal, desmodonte, ciment) à la présence excessive ou à la virulence de certaines espèces, essentiellement à Gram négatif, au niveau du sillon gingival. Cliniquement, la destruction plus ou moins importante de ces tissus conduit à la perte plus ou moins rapide de l'attache épithélio-conjonctive, et aboutit parfois à l'avulsion des dents. Selon la synchronisation des destructions tissulaires, la perte d'attache se fait avec ou sans formation d'une poche parodontale. La progression de la maladie est probablement continue, avec alternance de flambées inflammatoires aiguës locales et de rémission, traduisant le conflit agression bactérienne - réponse de l'hôte.

Pathogénie

La maladie parodontale débute au niveau du sillon gingivo-dentaire (Figure 3.31). La persistance dans le sillon de bactéries trop nombreuses, ou très virulentes, voire leur pénétration dans le tissu conjonctif, entraîne une réponse inflammatoire locale non spécifique, et une réponse immunitaire spécifique. La destruction du parodonte est due à la fois aux facteurs d'agression des bactéries parodontopathiques (enzymes lytiques, toxines, métabolites) mais aussi aux cellules stimulées par ces bactéries. En effet, si le facteur bactérien est indispensable dans la pathogénie des maladies parodontales, la présence de bactéries parodontopathiques ne suffit pas à expliquer la résorption osseuse, même si elle y contribue. En fait, les bactéries et leurs produits peuvent i) stimuler les cellules hôtes, résidentes et immigrantes, pour qu'elles expriment leurs enzymes de dégradation des tissus, et ii) provoquer une réponse immune, avec comme conséquence le relargage de cytokines par les lymphocytes, macrophages, et autres lignées de cellules. Ces cytokines peuvent activer une ou plusieurs voies de dégradation (métalloprotéases matricielles, résorption osseuse ostéoclastique...). Non seulement les parodontopathogènes stimulent les ostéoclastes impliqués dans la résorption osseuse, mais ils suppriment aussi l'ostéogénèse et découplent la communication entre les cellules formant et résorbant l'os.

Médiateurs bactériens de lyse

Certaines enzymes augmentent le pouvoir d'invasion des bactéries qui les produisent. Les protéases (collagénases, pseudo-trypsine, peptidases, aminopeptidases), la hyaluronidase et la chondroïtine sulfatase dégradent les protéines et la matrice extracellulaire. Des protéases bactériennes altèrent l'intégrité des tissus et facilitent leur invasion en dégradant des glycoprotéines (cadhérines) impliquées dans l'adhésion cellule-cellule. Par exemple, les gingipaines sécrétées par *Porphyromonas gingivalis* augmentent la perméabilité cellulaire par dégradation directe des protéines intercellulaires et destruction des connexions. L'élargissement des espaces intercellulaires dans l'épithélium de jonction le rend alors plus perméable aux produits bactériens (H_2S , NH_4^+ , endotoxines, amines, antigènes, protéases...).

Le LPS des bactéries à Gram négatif induit chez les macrophages, les fibroblastes et les kératinocytes, présents dans le tissu enflammé, la production d'enzymes lytiques, les métalloprotéases matricielles (MMPs). Habituellement impliquées dans le remodelage tissulaire, ces endopeptidases (gélatinases, collagénases et stromélysines) dégradent les constituants de la matrice tissulaire. Des inhibiteurs circulants, ou produits sur place ($\alpha 2$ -macroglobulines et inhibiteurs tissulaires des MMPs = TIMP), contrôlent l'activité des MMPs. Dans les parodontites, il y a un déséquilibre entre la synthèse de MMPs et les TIMPs en faveur d'une destruction accrue de la matrice extracellulaire de la gencive, de l'os alvéolaire et du ligament parodontal.

Les LPS peuvent aussi inhiber directement les fibroblastes. Certains métabolites bactériens sont cytotoxiques sur les fibroblastes (ammoniaque, acides gras, indole, amines et composés sulfurés volatils).

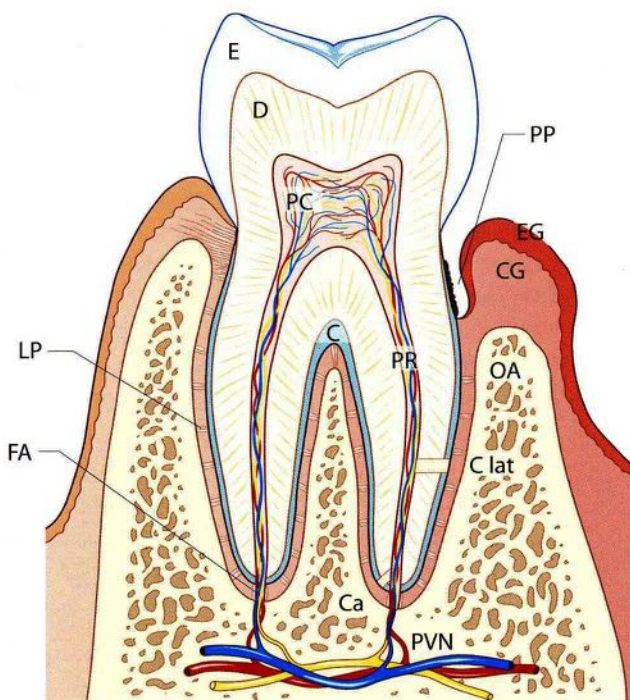
Médiateurs de l'inflammation immune ou non immune

Les PNNs peuvent maintenir la réaction inflammatoire et contribuer à détruire les tissus parodontaux en libérant leurs enzymes lysosomiales dans le sulcus, en activant les macrophages et en libérant les médiateurs de l'inflammation (TNF, interleukines, prostaglandines).

Certains composants bactériens (LPS, LTA, composants capsulaires) déclenchent indirectement la lyse tissulaire en stimulant la libération de médiateurs de l'inflammation (prostaglandines E, d'interleukine-1 et le TNF).

Les cellules de la lignée monocyte/macrophages joueraient un rôle important en produisant de l'IL1 et du TNF- α . En effet, l'IL1, l'IL6 et le TNF- α sont associés à l'activation de la résorption osseuse.

Figure 3.31 : pathogénie de la maladie parodontale. E = émail; D = dentine; PC = pulpe camérale; PR = pulpe radiculaire; LP = ligament parodontal; C = cément; FA = foramen apical; PVN = plexus vasculo-nerveux; OA = os alvéolaire; PP = poche parodontale; EG = épithélium gingival; CG = conjonctif gingival; Ca = canaux apicaux; C lat = canaux latéraux.



Les lymphocytes T participeraient à la résorption osseuse, indirectement par la sécrétion d'IL6, et directement par le recrutement de précurseurs ostéoclastiques.

L'IL6 sécrétée par les Th2 est un activateur de la résorption osseuse.

Les lymphocytes T activés peuvent exprimer le RANK-ligand, protéine normalement exprimée par les ostéoblastes, qui participe au recrutement des précurseurs des ostéoclastes en se liant à la protéine RANK.

Étiologie des maladies parodontales

Le rôle étiologique primaire des bactéries parodontopathogènes est bien établi, mais leur présence n'est pas toujours suffisante pour causer la maladie. La plupart des individus abritent en petit nombre ces pathogènes dans leurs sulci, qui semblent en équilibre avec le reste de la communauté bactérienne sous-gingivale, et avec l'hôte. Celui-ci ne manifeste aucun signe clinique de la maladie, et cela pour une durée variable (semaines, décennies...). La maladie parodontale se développe quand l'équilibre de la communauté bactérienne sous-gingivale est rompu en faveur des bactéries parodontopathogènes,

qui remplacent le microbiota commensal. Les mécanismes qui régulent et influencent les proportions de pathogènes et de commensaux, ou de bactéries bénéfiques, dans la plaque sous-gingivale, ne sont pas complètement élucidés. Il est probable que des facteurs de l'hôte (diminution de l'efficacité de son système immunitaire par exemple) et une modification des conditions environnementales du site (interactions bactériennes défavorables aux bactéries bénéfiques, utilisation d'antibiotiques par voie locale/systémique, développement du biofilm) influencent la composition du microbiota sous-gingival, et modulent l'expression des facteurs de virulence bactériens. Pour mieux comprendre l'étiologie de ces maladies multifactorielles, dans un écosystème aussi complexe que l'écosystème buccal (10^{10} bactéries, 500 taxons), il est donc nécessaire d'étudier les relations bactéries/bactéries et hôte/bactéries, de même que les effets des paramètres de l'environnement sur les facteurs de virulence et les réponses aux stress des bactéries parodontopathogènes.

De plus, un certain nombre d'études récentes, basées sur des techniques moléculaires (PCR), ont montré la présence d'ADN viral (HIV et herpesvirus) dans les tissus gingivaux, le fluide gingival, et la plaque sous-gingivale de sites parodontaux pathologiques.

Les bactéries parodontopathogènes

Plus de 500 taxons ont été isolés à partir de sulci gingivaux sains et/ou pathologiques. Certains seulement, seuls ou en combinaison, s'ils ont atteint une concentration critique, ont la capacité de dominer le microbiota oral, et d'exprimer un potentiel parodontopathogénique, pour initier la maladie. D'après Socransky, les espèces parodontopathogènes impliquées dans l'étiologie des maladies parodontales doivent répondre à six critères : i) être isolées plus fréquemment et en plus grand nombre dans les sites malades que dans les sites sains, ii) une amélioration clinique doit être observée après leur élimination ou la modification de leurs facteurs de virulence, iii) être présentes avant la progression de la maladie, iv) stimuler le système de défense de l'hôte, v) posséder les facteurs de virulence nécessaires à la destruction du parodonte, vi) induire des lésions parodontales sur le modèle animal.

Mais, la détermination des agents infectieux reste difficile, car ils sont membres du microbiota bactérien normal indigène, et sont considérés comme des pathogènes opportunistes. De nombreuses études ont montré que tous les types clonaux d'une espèce bactérienne ne sont pas virulents. Donc, si un pathogène suspect est retrouvé dans un site sain, il peut s'agir d'une souche avirulente. D'autre part, une souche virulente n'exprime pas sa virulence en permanence et une souche avirulente peut devenir virulente. En effet, pour qu'un pathogène exprime sa virulence, il doit posséder tous les éléments génétiques nécessaires. Si certains de ces éléments sont absents chez une souche habitant le sillon gingival, elle pourrait les recevoir d'autres souches de la même espèce (ou d'autres espèces), *via* des phages, plasmides ou transposons, et devenir virulente. Ainsi, des sites parodontaux sains pourraient être colonisés par des pathogènes parodontaux n'ayant pas la totalité des gènes nécessaires pour entraîner la destruction des tissus.

D'après Grenier et Mayrand (in Kuramitsu and Ellen, 2000), la capacité des bactéries buccales à envahir ou provoquer la maladie ne dépend pas seulement des caractères propres des espèces bactériennes elles-mêmes, mais peut résulter des conséquences des interactions bactériennes. La coopération de nombreuses espèces bactériennes est indispensable dans ces infections mixtes. Ainsi, des espèces dominantes au sein d'une lésion parodontale établie, quoique pourvues d'un panel d'attributs de virulence, requièrent néanmoins les facteurs d'autres bactéries, ou de l'hôte, pour exprimer totalement leur pathogénicité. À l'inverse, des espèces dépourvues de pathogénicité au sein de populations bactériennes mixtes peuvent activement participer au processus infectieux pour établir la lésion clinique.

Le(s) pathogène(s) doi(ven)t être en nombre suffisant pour initier ou causer la progression de la maladie. Pour rendre prédominant l'un des membres de l'écosystème, et/ou lui faire manifester certaines propriétés pathogènes, un changement de l'environnement semble nécessaire.

L'environnement local

Les propriétés physiologiques, biologiques et la pathogénicité d'une bactérie sont largement influencées par l'environnement. Celui-ci doit contenir des espèces bactériennes qui attisent l'infection ou du moins qui n'inhibent pas l'activité des pathogènes. L'environnement doit aussi être favorable à l'expression des facteurs de virulence par les pathogènes.

Interactions bactériennes

Les interactions bactériennes jouent un rôle dans la nature des espèces qui colonisent un site, et sont soit nuisibles, conduisant à des infections mixtes, soit bénéfiques pour l'hôte. La plupart des espèces résidentes sont sans doute hôte-compatibles, voire bénéfiques pour l'hôte. Elles peuvent, par exemple, coloniser des sites à la place des pathogènes en bloquant leurs sites récepteurs, ou bien détruire des facteurs de virulence produits par des pathogènes. L'étude des antagonismes interbactériens a permis, par exemple, de mieux comprendre l'écologie de la maladie parodontale destructrice. Des chercheurs, intrigués par la stabilité au long cours d'une lésion de parodontite agressive localisée (PAL = ex-parodontite juvénile localisée), ont montré qu'un microbiota néfaste au retour des présumés pathogènes (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) s'était établi après le traitement (chirurgie et prescription de tétracyclines par voie systémique). Ce microbiota, composé principalement d'*Actinomyces naeslundii* et de *Streptococcus sanguinis*, produit du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui inhibe directement la croissance du pathogène. Ces espèces bénéfiques étaient absentes ou en faible nombre dans la maladie initiale, mais retrouvées en grand nombre après le traitement. De telles interactions montrent le rôle potentiel que jouent les espèces microbiennes résidentes en permettant ou prévenant l'établissement ou le développement des espèces pathogènes.

Expression des facteurs de virulence

Les souches virulentes des espèces pathogènes n'expriment pas toujours leurs facteurs de virulence. En général, un régulon commun aux micro-organismes pathogènes régule l'expression simultanée d'une série de facteurs de virulence. Il semble être sensible et régulé par l'environnement, ce qui explique la longue phase de latence avant l'initiation de la maladie. Un pathogène peut résider tranquillement dans un site pendant des années comme membre compatible du microbiota, mais un changement de l'environnement local est capable d'influencer l'expression de ses facteurs de virulence et de le transformer en agent destructeur.

L'environnement local permet de réguler le transfert de certains éléments génétiques, *via* les bactériophages, les plasmides ou les transposons, ou bien de « stresser » ces pathogènes, afin qu'ils expriment les propriétés nécessaires à la destruction des tissus. De nombreux stimuli environnementaux et chimiques, comme la température sous-gingivale, la pression osmotique, la concentration en fer, en hémine, en magnésium, ou en calcium, le pH, les inhibiteurs métaboliques, le stress nutritionnel et le stress oxydatif sont capables de modifier les réponses biologiques d'une bactérie, qui peut devenir prédominante, et/ou manifester quelques-unes de ses propriétés pathogéniques. Par exemple, le taux de fer dans l'environnement peut affecter l'expression de protéines de membrane externe chez *Porphyromonas gingivalis*. Les bactéries soumises à ces stress environnementaux répondent en induisant ou accélérant la synthèse de protéines anormales (dénaturées ou endommagées) spécifiques appelées protéines de stress. La réponse au stress « choc thermique » a été étudiée chez de nombreux parodontopathogènes tels que : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*,

Porphyromonas gingivalis, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*. En général, toutes ces bactéries expriment une réponse classique avec augmentation de la synthèse d'HSP60 et d'HSP70. Hautement immunoréactives, ces protéines de stress jouent sûrement un rôle dans la réponse immunitaire à de nombreux pathogènes bactériens.

D'autres facteurs de l'hôte influencent l'environnement sous-gingival. Les facteurs favorisant le développement du biofilm (malocclusion, occlusion traumatique, tassements alimentaires, respiration buccale, morphologie dentaire, restaurations dentaires iatrogènes) entraînent une inflammation des tissus parodontaux qui influencent le développement de la maladie parodontale. De même, la profondeur de la poche parodontale favorise l'accumulation bactérienne, mais aussi le déséquilibre dans la composition du microbiota (augmentation des espèces *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* avec la profondeur de la poche, alors que *A. viscosus* et *S. sanguinis* sont peu influencés). Ainsi, la prévalence et le taux d'espèces sous-gingivales varient dans des sites de profondeur de poches différents.

Interactions bactéries-hôte : susceptibilité de l'hôte

La progression de la maladie parodontale dépend de la susceptibilité de l'hôte, à la fois localement mais aussi de façon systémique. L'homéostasie du microbiota parodontal peut être bouleversée par un certain nombre de facteurs de l'hôte, essentiellement des facteurs immunologiques (altération du nombre ou de la fonction des polynucléaires neutrophiles, dysfonction du système immunitaire, immunosuppression due à la chimiothérapie, diminution de l'immunité à médiation cellulaire due à l'âge...). Mais, des facteurs hormonaux, nutritionnels, génétiques, des maladies systémiques ou infectieuses, des habitudes de vie (tabac, drogues, alcool), des traitements médicamenteux (antibiotiques, chimiothérapie...), le stress, les émotions et le vieillissement peuvent rompre l'équilibre de la flore sous-gingivale et permettre aux espèces pathogènes d'émerger. Ces facteurs, encore mal connus, jouent certainement un rôle dans l'initiation et la vitesse de progression des maladies parodontales.

Une maladie systémique débilissante peut altérer la capacité de l'hôte à juguler une infection et peut exacerber une infection existante. Différentes études ont montré que les maladies parodontales sont plus fréquentes et sévères chez les patients HIV⁺ que HIV⁻. Chez certains patients HIV⁺, des lésions parodontales nécrotiques, inhabituelles, rapidement destructrices, sont observées. De nombreuses études, mais pas toutes, indiquent que la parodontite est plus sévère chez le sujet diabétique jeune ou adulte par rapport aux témoins non diabétiques. La plupart du temps, les espèces parodontopathiques, isolées des lésions parodontales des sujets HIV⁺ et diabétiques, ne sont pas de nouvelles espèces, même si des organismes inhabituels sont parfois isolés (*Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Candida*). C'est donc l'altération de la susceptibilité de l'hôte (diminution de la résistance) qui a changé la vitesse de progression de la maladie chez ces sujets, et qui conduit à une destruction importante des tissus.

Tous les patients diabétiques ou HIV⁺ ne sont pas atteints de maladies parodontales, et pas obligatoirement de formes très rapides, cela dépend de l'hygiène du patient. De plus, la plupart des patients avec des formes bénignes ou rapides sont traités avec succès par des thérapies parodontales conventionnelles.

Virus et maladies parodontales

Certaines équipes de recherche s'orientent vers une nouvelle conception de l'étiopathogénie des maladies parodontales, impliquant en particulier les herpesvirus. D'après Slots et Contreras, 2000, les

herpesvirus peuvent être impliqués dans le développement des maladies parodontales par le biais d'au moins quatre mécanismes opérant seuls ou en combinaison.

- Ils peuvent avoir des effets cytopathogènes directs sur les constituants clés des tissus parodontaux inflammatoires : fibroblastes, kératinocytes, cellules endothéliales, cellules de l'inflammation (PNN, lymphocytes, macrophages) et cellules osseuses.
- Ils altèrent le fonctionnement des cellules impliquées dans la défense de l'organisme, favorisant ainsi la survenue de surinfections microbiennes. Des altérations, même minimales, des défenses de l'organisme par les herpesvirus seraient suffisantes pour permettre aux bactéries parodontopathiques de proliférer.
- Les protéines virales exprimées sur les membranes cellulaires pourraient servir de récepteurs et créer de nouveaux sites de liaison pour les bactéries. Les herpesvirus infectant la gencive peuvent promouvoir la colonisation et la fixation de bactéries parodontopathiques. Les lésions causées aux cellules de la barrière épithéliale du parodonte par les herpesvirus peuvent faciliter l'accès bactérien des sites tissulaires plus profonds.
- Les herpesvirus peuvent influencer la production des médiateurs de l'inflammation.

Flore des maladies parodontales

En 1999, l'académie américaine de parodontologie a proposé une nouvelle classification des maladies parodontales (voir encadré). Les populations bactériennes présentes dans l'espace gingivo-dentaire sont sous le contrôle des molécules et des cellules de l'immunité. Un certain nombre de groupes bactériens sont régulièrement retrouvés dans les différents types de maladies parodontales (Tableau 3.20). Ces groupes ne sont pas une simple accumulation de bactéries au hasard, mais une coopération indispensable entre espèces bactériennes pour réaliser une synergie pathogène et entraîner la maladie. Toutefois, il est probable que des bactéries encore insoupçonnées soient activement impliquées dans l'initiation et/ou la progression des parodontites. Ces bactéries peuvent être non cultivables ou simplement absentes ou présentes en faible nombre dans les sites infectés, ou seulement requises pour l'initiation de la maladie. L'utilisation d'une approche moléculaire peut être d'un grand intérêt pour élucider le rôle de ces bactéries buccales dans la pathogenèse des maladies parodontales. Ainsi, l'analyse des séquences ARNr a permis la découverte d'une vingtaine d'espèces de *Treponema* qui n'avaient pas encore été cultivées et classées. Pour qu'une espèce bactérienne soit impliquée dans une maladie parodontale, il faut qu'elle réponde aux six critères de Socransky décrits précédemment dans le chapitre étiologie. En particulier, elle doit posséder les facteurs de virulence (adhésines, LPS, protéinases, vésicules, hémolysines...) nécessaires à la destruction du parodonte. Trois espèces en particulier possèdent de nombreux facteurs de virulence : *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* et *T. denticola*. Elles se différencient des nombreuses autres espèces présentes dans la plaque sous-gingivale car elles ont la capacité de pénétrer dans l'épithélium gingival et donc, de présenter leurs endotoxines, enzymes et molécules cytotoxiques directement aux cellules inflammatoires de l'hôte. Les groupes bactériens isolés à partir des différents types de maladies parodontales sont différents de ceux rencontrés dans les sillons gingivo-dentaires sains. Ils sont résumés dans le tableau 3.20.

Flore des sillons sains

La paroi dentaire des sillons est colonisée par des bactéries à Gram positif (streptocoques et actinomyces essentiellement) qui permettent la coagrégation de nombreux parodontopathogènes (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*). La flore à Gram positif et les cocci à Gram négatif

Tableau 3.20 : flore des sillons sains et flore associée aux maladies parodontales.

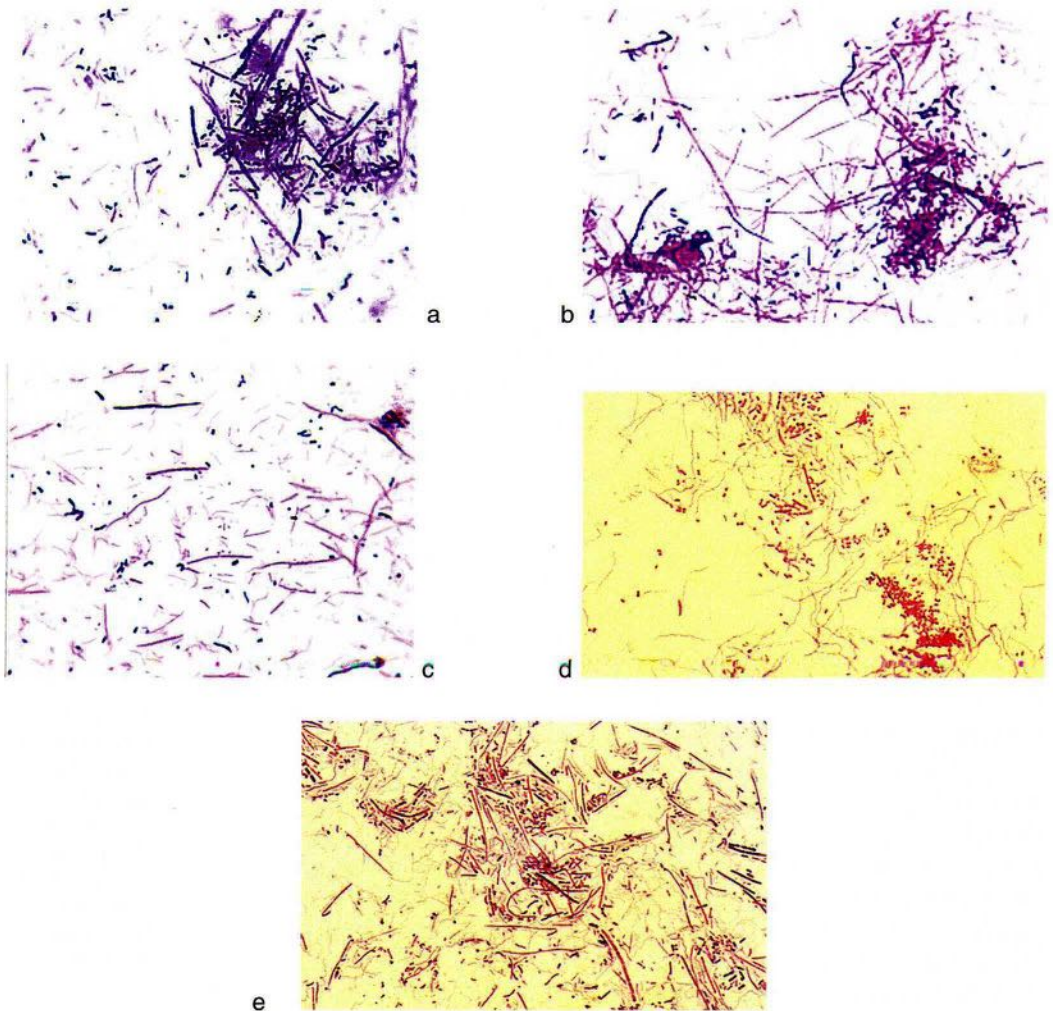
		Gram+		Gram-	
		Aérobies anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts	Aérobies anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts
Sillon sain		<i>Actinomyces</i> <i>Streptococcus</i>		<i>Neisseria</i>	<i>Fusobacterium</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Tannerella</i> <i>Treponema</i> ^m <i>Veillonella</i>
Gingivite chronique		<i>Actinomyces</i> <i>Streptococcus</i>			<i>F. nucleatum</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>P. nigrescens</i> <i>Treponema</i> ^m
Parodontite chronique active			<i>Micromonas micros</i>	<i>C. rectus</i> ^m <i>E. corrodens</i> sm	<i>F. nucleatum</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>P. nigrescens</i> <i>S. noxia</i> ^m <i>T. forsythia</i> <i>T. denticola</i> ^m
Parodontite agressive	localisée			<i>A.a</i> <i>C. rectus</i> ^m <i>Capnocytophaga</i> ^m	<i>F. nucleatum</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i>
	généralisée	<i>Staphylococcus</i> *		<i>A. a</i> = rares <i>Eikenella corrodens</i> sm , <i>Pseudomonas</i> sm *, Bacilles entériques* (<i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i>)	<i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>Selenomonas</i> ^m <i>T. forsythia</i>
Parodontite nécrotique					<i>F. nucleatum</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>T. denticola</i> ^m
Absès parodontal et périoronarites		<i>Actinomyces</i>	<i>Eubacterium</i> <i>Micromonas micros</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Campylobacter</i> ^m	<i>Bacteroides</i> <i>F. nucleatum</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>T. forsythia</i> <i>T. denticola</i> ^m <i>Veillonella</i>

*Flore inhabituelle ; m = bactéries mobiles ; sm = mobilité par saccades

A.a = *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Selenomonas noxia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*

(*Veillonella* et *Neisseria*) sont identiques à ceux de la plaque supra-gingivale, mais en plus faible proportion. Inversement, les bacilles à Gram négatif (*Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Tannerella*) sont en plus grand nombre (Figure 3.32a et Tableau 3.20). Des spirochètes et des bactéries mobiles sont parfois présents en faible quantité.

Figure 3.32 : coloration de Gram d'un prélèvement intrasulculaire. a) flore d'un sulcus sain. b) flore d'une gingivite chronique marginale. c) flore d'une parodontite chronique. d) flore d'une parodontite agressive. e) flore d'une parodontite nécrotique (documents Dr O. Barsotti - Laboratoire d'étude des interfaces et des biofilms en odontologie - Faculté d'odontologie - Lyon I).



Flore des gingivites d'origine infectieuse

La gingivite chronique marginale (Figure 3.33) caractérisée par une inflammation superficielle de la gencive marginale, qui est rouge, tuméfiée, et saigne facilement, apparaît lorsqu'un certain seuil de bactéries, à Gram positif dans un premier temps, a été dépassé (Figure 3.32b et Tableau 3.20). L'œdème gingival crée une pseudo-poche qui permet la croissance de bactéries anaérobies. L'alcalinisation du sillon, conséquence de la protéolyse avec production d'ammoniac, favorise également la croissance de pathogènes comme *P. gingivalis*. Les micro-organismes à Gram positif ou anaérobies facultatifs sont encore présents, mais leur proportion a diminué au profit des bactéries à Gram négatif et des anaérobies stricts (*F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Treponema* spp.). La proportion de bacilles à Gram négatif anaérobies (*Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*) augmente en présence d'un taux important d'œstradiol et de progestérone à certaines périodes de la vie (puberté, contraception, grossesse). Ces hormones circulantes, présentes au niveau des sulci via le fluide gingival, sont des substituts de la ménadione (vitamine K3), facteur de croissance des *Bacteroidaceae* à pigmentation noire (BPN). La gingivite peut régresser si les facteurs agressifs (biofilm, restaurations/prothèses iatrogènes...) sont éliminés ou, au contraire, évoluer vers la parodontite s'ils persistent.

Figure 3.33 : gingivite chronique marginale associée au biofilm dentaire (cas clinique Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).

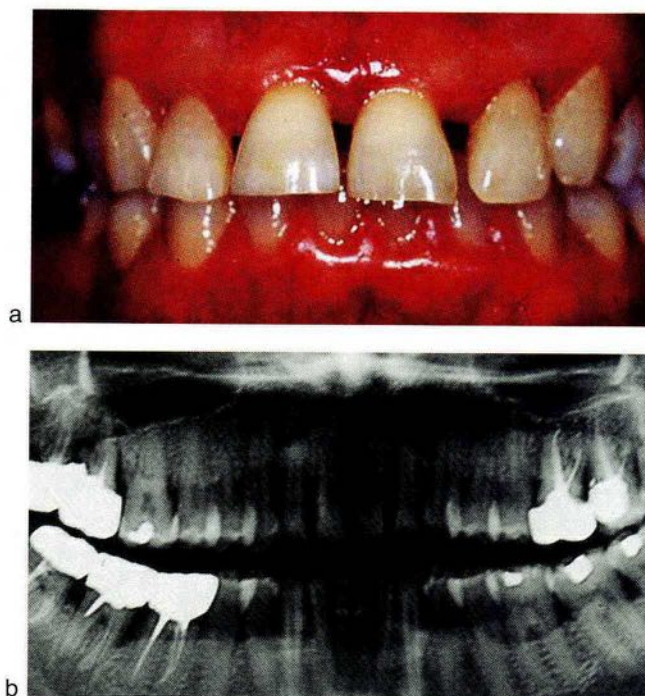


Flore des parodontites chroniques (ex-parodontite de l'adulte)

La parodontite chronique est caractérisée par une inflammation gingivale chronique, une perte d'attache, des mobilités et des migrations dentaires plus ou moins importantes (Figure 3.34).

La flore des poches parodontales varie beaucoup d'un site à l'autre et entre patients. Pendant les phases de rémission, elle est proche de la flore sous-gingivale normale. Mais, dans les lésions actives cette flore polymorphe est trois fois plus dense que celle de la gingivite. Elle est caractérisée par une forte proportion d'anaérobies à Gram négatif et de bactéries mobiles, dont 30% sont des spirochètes (Figure 3.32c et Tableau 3.20). Un groupe d'une dizaine de bactéries incluant *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Micromonas micros*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *nigrescens*, *Selenomonas* spp., *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola* est associé à la parodontite chronique. La présence de trois espèces semble en corrélation avec la parodontite initiale : *Campylobacter rectus*, *Selenomonas noxia* et *Tannerella forsythia* (ex. *Bacteroides forsythus*).

Figure 3.34 : parodontite chronique chez une patiente âgée de 45 ans – a) aspect clinique et b) radiologique (cas cliniques Dr B. Straub - Centre Hospitalier Lyon Sud).



Flore des parodontites agressives

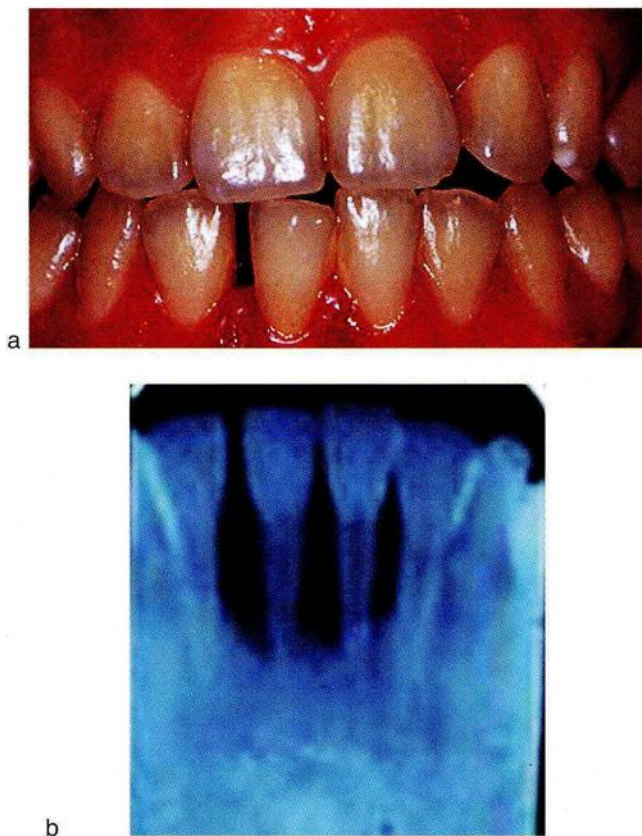
Dans ces formes sévères de parodontite (Figure 3.35), des pathogènes parodontaux très nombreux et très virulents colonisent les poches parodontales (Figure 3.32d et Tableau 3.20). Certains infiltrer le conjonctif gingival, ce qui rend impossible leur élimination par traitement mécanique. Des anomalies de fonction (phagocytose, chimiotaxie) ou de nombre des cellules immunitaires (PNNs et macrophages) sont souvent observées. Elles diminuent les défenses de l'hôte vis-à-vis de l'agression bactérienne. Les parodontites agressives localisées sont quatre fois plus fréquentes que les parodontites agressives généralisées.

Dans la forme localisée (ex-parodontite juvénile localisée) la plaque est typiquement peu abondante, avec prédominance d'*Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Contrairement aux isolats provenant de sujets ayant un parodonte sain, la majorité des souches d'*A. actinomycetemcomitans* issues de patients atteints de parodontite agressive localisée produisent une leucotoxine active sur les polynucléaires neutrophiles (PNNs), la fonction chimiotactique de ces PNNs étant déjà génétiquement altérée chez ces patients. Un taux important d'anticorps anti-*A. actinomycetemcomitans* est retrouvé dans le sérum, la salive et le fluide gingival de ces patients contrairement aux taux retrouvés chez les patients sains ou atteints d'autres formes de parodontites. Toutefois, il n'est pas prouvé qu'*A. actinomycetemcomitans* soit un marqueur de sévérité et de progression de la maladie, excepté pour les parodontites agressives associées au syndrome de Papillon-Lefèvre. D'autres espèces anaérobies à Gram négatif sont retrouvées dans cette forme localisée de parodontite agressive comme *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*. Certaines

familles semblent plus susceptibles aux parodontites agressives, suggérant l'existence d'un facteur héréditaire. Une autre hypothèse est la transmission ou la contamination familiale d'une flore agressive (*A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*). L'évolution de cette forme localisée vers une rémission, la chute des dents concernées, ou une forme généralisée dépendrait, en partie, du taux d'anticorps anti-*A. actinomycetemcomitans*.

Dans les parodontites agressives généralisées (ex-parodontite juvénile généralisée et parodontite à progression rapide), la flore des poches parodontales profondes (> 7 mm) est très polymorphe. Certaines espèces prédominent et semblent indispensables (*P. gingivalis* surtout mais aussi *Eikenella corrodens*, *Selenomonas* spp. et *Tannerella forsythia*). D'autres bacilles anaérobies à Gram négatif sont parfois présents (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*) ainsi que *Treponema denticola*, alors qu'*Actinobacillus actinomycetemcomitans* serait en faible nombre. Une flore inhabituelle, opportuniste (staphylocoques, bacilles entériques, *Pseudomonas* et *Candida albicans*) est souvent présente. Contrairement à la forme localisée, l'adhésion des phagocytes est modifiée (perturbation des glycoprotéines de surface), et les cellules de défense ne peuvent pas quitter normalement les vaisseaux pour se diriger vers la zone d'agression.

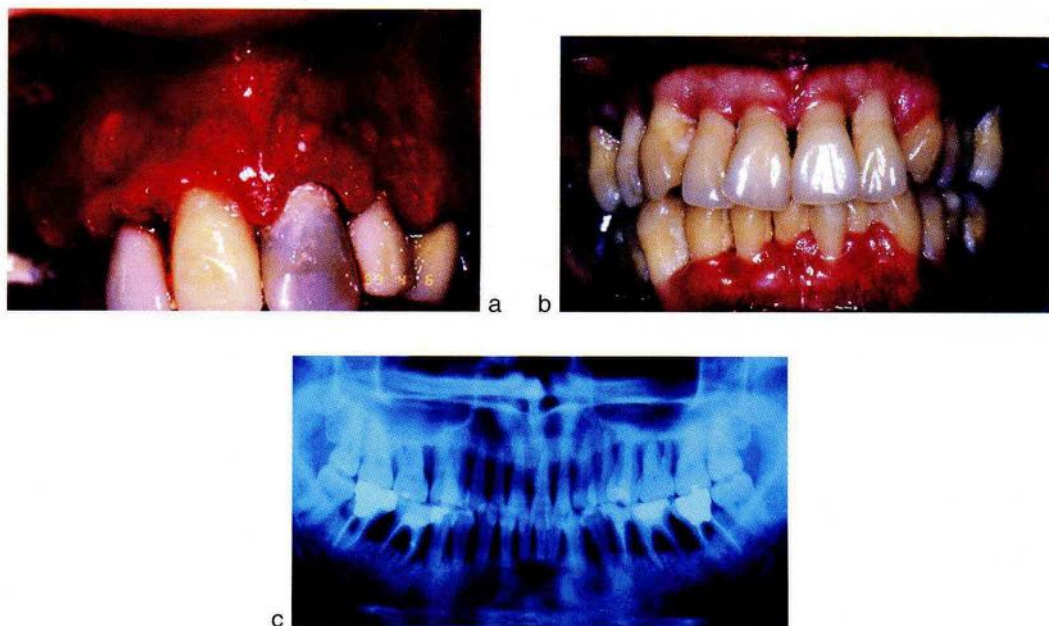
Figure 3.35 : parodontite agressive localisée chez une patiente âgée de 20 ans – a) aspect clinique et b) radiologique (cas cliniques Dr B. Straub - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Flore des parodontites associées à des maladies systémiques ou infectieuses

Les parodontites observées lors des maladies systémiques sont très souvent des parodontites agressives (Figure 3.36) qui se développent grâce à la détérioration des défenses de l'hôte. La flore sous-gingivale est en grande partie semblable à celle des parodontites agressives (Tableau 3.21).

Figure 3.36 : parodontites agressives associées à une maladie systémique. a) chez une patiente leucémique âgée de 50 ans. b) chez une patiente HIV⁺ âgée de 23 ans - aspect clinique et c) radiologique (cas cliniques Dr B. Straub - Centre Hospitalier Lyon Sud).



Sujets leucémiques, neutropéniques

Certaines espèces bactériennes sont plus particulièrement associées aux parodontopathies liées aux désordres hématologiques (neutropénie acquise, leucémie...) : *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium*, 30 à 50 % de BPN (*P. gingivalis* et *P. intermedia*) et des spirochètes. Une flore inhabituelle, opportuniste (*Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, staphylocoques et *Candida albicans*) est souvent présente.

Sujets HIV⁺

Même dans les sites sains et les gingivites, les germes pathogènes sont plus nombreux chez les sujets HIV⁺ que chez les sujets HIV⁻. Toutefois, le microbiota sous-gingival est très semblable à celui de patients parodontopathiques HIV⁻, même si des organismes inhabituels (*P. aeruginosa*, bacilles entériques et *Candida*) sont parfois isolés. Certains parodontopathogènes (*A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* et *P. intermedia*) sont retrouvés plus fréquemment dans les sites parodontopathiques des sujets HIV⁺ que dans les gingivites ou les sites sains de ces mêmes patients. Parfois, des taux importants de spirochètes et peu de *Candida* et de bacilles à Gram négatif sont

retrouvés. Parmi les bactéries à Gram positif, *Eubacterium*, *Micromonas micros* et *Clostridium* sont le plus fréquemment retrouvés.

Tableau 3.21 : flore associée aux parodontites liées à une maladie systémique ou infectieuse.

Pathologies		Gram+		Gram-	
		Aérobies anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts	Aérobies anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts
Leucémies/neutropénies		<i>S. aureus</i> * <i>S. epidermidis</i> *		<i>A.a</i> <i>Acinetobacter</i> * <i>Klebsiella</i> * <i>P. aeruginosa</i> sm *	<i>Fusobacterium</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>Treponema</i> ^m
HIV+			<i>Clostridium</i> ^m <i>Eubacterium</i> <i>M. micros</i>	<i>A.a</i> <i>C. rectus</i> ^m <i>P. aeruginosa</i> sm * Bacilles entériques* (<i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i>)	<i>Fusobacterium</i> spp. <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>Treponema</i> ^m
Syndrome de Papillon-Lefèvre				<i>A.a</i> <i>E. corrodens</i> sm <i>H. aphrophilus</i>	<i>F. nucleatum</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i>
Syndrome de Down	gingivite		<i>Clostridium</i> ^m		
	parodontite			<i>A.a</i>	<i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>Treponema</i> ^m spp.
Diabète	sujet jeune			<i>A.a</i> <i>Capnocytophaga</i> ^m	
	sujet adulte			<i>A.a</i> <i>C. gracilis</i> ^{**m} <i>C. rectus</i> ^m <i>E. corrodens</i> ^{sm**}	<i>F. nucleatum</i> ^{**} <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>P. melaninogenica</i> ^{**}
Maladie de Crohn			<i>Eubacterium</i> <i>M. micros</i>	<i>C. consisus</i> ^m <i>C. rectus</i> ^m	<i>Fusobacterium</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>S. noxia</i> ^m

*Flore inhabituelle. ** Parodontopathogènes retrouvés chez le patient diabétique insulino-dépendant mal contrôlé.
m = bactéries mobiles. sm = mobilité par saccades.

A.a = *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter consisus*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Haemophilus aphrophilus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Selenomonas noxia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Treponema denticola*

Syndrome de Papillon-Lefèvre

La flore sous-gingivale des patients atteints du syndrome de Papillon-Lefèvre est constituée à 80 % de bacilles à Gram négatif. *A. actinomycetemcomitans* est l'espèce la plus souvent détectée ainsi qu'*Haemophilus aphrophilus* et *P. intermedia*. D'autres espèces sont isolées moins fréquemment : *E. corrodens*, *F. nucleatum* et *P. gingivalis*.

Syndrome de Down = trisomie 21

Chez les patients atteints du syndrome de Down, la gingivite se caractérise par une forte proportion de *Clostridium* et la parodontite par la présence d'*A. actinomycetemcomitans*, de *Bacteroidaceae* à pigmentation noires (*P. gingivalis*, *P. intermedia*) et d'un grand nombre de spirochètes.

Diabétiques

Le diabète prédisposerait le patient aux parodontites en diminuant l'immunité locale vis-à-vis des bactéries du biofilm dentaire. Des modifications physiologiques, telles qu'une micro-angiopathie, une modification du métabolisme du collagène et une dysfonction des neutrophiles pourraient altérer les défenses de l'hôte et favoriser la croissance et la virulence des bactéries buccales. Les mêmes pathogènes parodontaux sont retrouvés dans les sites malades des patients parodontopathiques diabétiques et non diabétiques. Toutefois, un nombre élevé de parodontopathogènes est retrouvé dans les sites malades de diabétiques insulino-dépendants mal contrôlés, comparé aux sites sains de ces mêmes sujets : *A. actinomycetemcomitans*, *Campylobacter* (*C. gracilis*, *C. rectus*), *E. corrodens*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *Prevotella* (*P. intermedia*, *P. melaninogenica*). Certaines de ces espèces sont retrouvées en grand nombre dans les poches parodontales de patients diabétiques non-insulino-dépendant : *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* et *P. intermedia*. *P. intermedia* est l'espèce la plus fréquemment retrouvée. *A. actinomycetemcomitans* et *Capnocytophaga* spp. sont en nombre élevés dans la plaque sous-gingivale de sujets diabétiques jeunes, alors qu'*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* et *P. intermedia* sont surtout présents chez l'adulte diabétique.

Maladie de Crohn

Une forte prévalence de *Campylobacter concisus* et *Campylobacter rectus* est retrouvée dans la flore sous-gingivale de patients atteints de maladie de Crohn. Pour certains, il faudrait éliminer ces espèces de la cavité buccale des patients pour obtenir au moins une rémission de la maladie. Des anaérobies stricts sont également isolés (bacilles à Gram négatif, cocci et bacilles à Gram positif).

Flore des maladies parodontales nécrotiques (ex-GUNA et PUNA)

La maladie parodontale nécrotique est caractérisée cliniquement par une décapitation des papilles interdentaires, qui présentent en surface un aspect de cendres de cigarettes (Figure 3.37a). La flore des maladies parodontales nécrosantes est constituée essentiellement d'espèces anaérobies strictes : *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* et *Treponema* spp. (30 à 40 % de la flore). Une concentration importante d'adrénaline circulante provoquerait une ischémie relative dans la papille interdentaire et rendrait ce tissu vulnérable à l'invasion par les bactéries anaérobies (Figure 3.32e et Tableau 3.20). Les modifications locales permettraient ensuite la libération d'hémine et de ménadione, facteurs de croissance des *Bacteroidaceae* pigmentés noirs (*Porphyromonas* spp., *Prevotella intermedia*). Une des caractéristiques de la maladie parodontale nécrotique est l'importante pénétration des spirochètes et *P. intermedia* dans le jonctif gingival, qui rend impossible leur élimination par traitement mécanique. Il existe une forme maligne, appelée noma ou *cancrum oris*, s'étendant aux tissus de la face, gangrénant et détruisant la sphère oro-faciale. Cette forme, très virulente, survient sur un terrain débilité par la malnutrition (déficit en protéines), particulièrement en pays tropicaux (Figure 3.37b).

Flore des abcès parodontaux

Cliniquement, l'abcès parodontal est caractérisé par une tuméfaction gingivale, une rougeur et un saignement (Figure 3.38). Une forme particulière d'abcès parodontal est la péricoronarite. La flore des abcès (Tableau 3.20) est assez semblable quelle que soit leur origine, à l'exception de l'espèce *P. endodontalis*, rarement retrouvée en dehors des abcès d'origine endodontique. Toutefois, dans les

abcès parodontaux, certaines espèces anaérobies prédominent (*Actinomyces* spp., *Campylobacter* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *M. micros*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*). La microbiologie des péri coronarites montre en général les mêmes profils microbiologiques que les autres types d'abcès dentaires. Ce sont principalement des bactéries anaérobies qui sont retrouvées et plus particulièrement *Campylobacter gracilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *P. melanogenica*, mais aussi *Actinomyces* spp., *Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp., *Micromonas micros*, *Peptostreptococcus* spp., *Veillonella* spp. Certaines sont productrices de β -lactamases. Quelques espèces anaérobies facultatives ont été retrouvées (*Campylobacter* spp., *Capnocytophaga* spp., *Streptococcus* spp.).

Figure 3.37 : maladies parodontales nécrotiques. a) aspect clinique classique chez un patient stressé à l'hygiène négligée (cas clinique Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I). b) noma ou cancrum oris = forme maligne s'étendant aux tissus de la face chez un enfant (document Pr. D. Bourgeois - OMS).

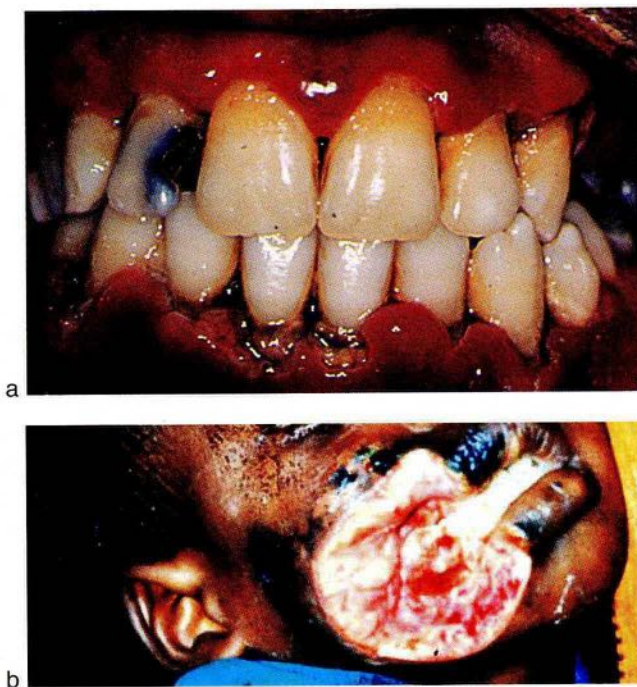


Figure 3.38 : abcès parodontal (cas clinique Dr O. Robin - Service d'odontologie - HCL - Lyon I).



Flore des parodontites réfractaires

La parodontite est dite «réfractaire» lorsque l'infection et la destruction osseuse persistent en dépit du traitement. Ce n'est pas une entité clinique, elle touche tous les types de maladies parodontales. Soit les germes sont protégés dans les tissus gingivaux ou le ciment, et ils sont inaccessibles à l'instrumentation mécanique, soit les défenses locales sont particulièrement amoindries ou bien des facteurs génétiques modifient la réponse de l'hôte aux bactéries. Le tabagisme semble jouer un rôle important dans la parodontite réfractaire et, d'une façon générale, dans la récurrence de la parodontite. La flore des sites réfractaires, variable selon les sujets, serait caractérisée par des complexes de 3 ou 4 espèces prédominantes, comme par exemple *Fusobacterium nucleatum*, *P. gingivalis* et *Tannerella forsythia*. La flore est parfois à prédominance Gram-positif avec des taux élevés de *Micromonas micros* (ex-*Peptostreptococcus*) ou *Streptococcus intermedius*. Parfois, une flore opportuniste comprenant des bacilles entériques (*Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*...) et des *Candida albicans* est retrouvée.

Flore des parodontites chez les sujets tabagiques

Le tabagisme est souvent associé à l'aggravation d'une maladie parodontale par son action sur la circulation générale (libération d'épinéphrine à l'origine d'une vasoconstriction provoquant une ischémie) et en altérant la fonction leucocytaire de défense.

Les gros fumeurs (plus de 20 cigarettes/j) présentent des parodontites caractérisées par une augmentation des *Bacteroidaceae* à pigmentation noire : *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. melaninogenica*...

Flore inhabituelle

Une flore opportuniste (*Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Candida albicans*) de germes hautement infectieux est souvent présente dans le sillon gingival ou la poche parodontale de sujets dont le système immunitaire est affaibli (pathologies générales, traitement immunosuppresseur, infections, désordres hématologiques ou génétiques) et qui sont atteints de maladies parodontales agressives. Ces pathogènes, non détectés habituellement dans les maladies parodontales, sont toujours associés à la flore parodontale pathogène classique. Ils proviennent probablement du sujet lui-même. Ce sont généralement des germes de surinfection fréquemment retrouvés lors d'infections chez des patients fragiles.

Diagnostic bactériologique

Indications

Le diagnostic microbiologique n'est actuellement envisagé que dans certains types de parodontites particulièrement sévères chez des sujets répondant mal à un traitement conventionnel. Toutefois, lorsque le diagnostic clinique est insuffisant, une analyse bactériologique permet parfois de différencier certaines pathologies (gingivite chronique et parodontite à ses débuts s'il n'y a pas de perte d'attache détectable), de suivre l'efficacité des traitements et celle de l'antibiothérapie par un contrôle de la fluctuation des populations bactériennes (dérive anaérobie et augmentation des bactéries à Gram négatif). Des techniques de biologie moléculaire permettent également de rechercher les sources et les modes de transmission des bactéries.

Les techniques permettant l'identification et la quantification des bactéries parodontopathiques (§ Méthode de diagnostic microbiologique et Tableau 3.4) peuvent se résumer de la façon suivante :

Description des tests

Examen microscopique direct

L'examen microscopique direct (fond noir, contraste de phase, coloration de Gram) d'un échantillon de plaque permet de déterminer approximativement le pourcentage des différents morphotypes (coques, bacilles) bactériens présents, de bactéries mobiles, en particulier de spirochètes, de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Il permet de détecter la présence de cellules inflammatoires et de protozoaires. Mais, cette technique ne permet pas d'identifier les espèces présentes ni de déterminer la sensibilité aux antibiotiques.

Culture bactérienne

La culture d'un échantillon de plaque (10^3 bactéries sont nécessaires) sur des milieux appropriés, sélectifs ou non, permet de répertorier et d'identifier les espèces présentes dans l'échantillon et d'effectuer un antibiogramme. Les milieux non sélectifs ont une sensibilité moyenne et peuvent entraîner la prolifération excessive de certaines souches bactériennes. Ces cultures nécessitent un personnel très spécialisé, capable d'isoler et d'identifier une cinquantaine d'espèces à chaque prélèvement de poches parodontales. De plus, les bactéries anaérobies strictes, majoritaires dans ce type de prélèvement, requièrent des conditions spéciales de transport et les premiers résultats ne sont pas obtenus avant deux semaines. Les bactéries viables non cultivables ne sont pas répertoriées par cette technique.

Tests enzymatiques

Des métabolites ou des enzymes (glucuronidase, élastase, collagénase, pseudo-trypsine) typiques d'une inflammation ou d'une infection sont détectables dans un échantillon de plaque. Une enzyme trypsine-like, présente chez certaines espèces bactériennes anaérobies de la plaque sous-gingivale impliquées dans les parodontopathies (*Capnocytophaga*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*), peut être détectée par l'hydrolyse d'un substrat synthétique de la trypsine, le Benzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide (BANA). Le test BANA, quoique peu spécifique et peu sensible (10^5 bactéries sont nécessaires), permet de déceler un taux élevé de pathogènes parodontaux potentiels.

Tests immunologiques

Des sondes immunologiques (antisérums, anticorps monoclonaux spécifiques) de bactéries cibles, en présence des antigènes correspondants, forment un complexe révélé par différentes techniques (immunofluorescence, ELISA...). Ces tests immunologiques spécifiques, mais peu sensibles, sont utilisés pour détecter et quantifier les taux de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* et *T. denticola*.

Tests génétiques (sondes ADN avec ou sans amplification génomique)

L'hybridation de sondes ADN avec l'ADN des bactéries cibles permet l'évaluation semi-quantitative des bactéries pathogènes et leur identification. Ces tests sont spécifiques (pas de réactions croisées significatives entre espèces génétiquement proches comme *P. intermedia* et *P. nigrescens*) et assez sensibles, si la séquence cible d'ADN est amplifiée par PCR. Actuellement, il existe des sondes ADN pour les espèces *A. actinomycetemcomitans*, *C. ochracea*, *C. rectus*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *F. nucleatum* subsp. *vincentii*, *M. micros*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *S. intermedius*, *S. oralis*, *S. sanguinis*, *T. forsythia*, *T. denticola* et *V. parvula*.

Les tests immunologiques et les tests ADN permettent seulement de détecter les espèces pour lesquelles des sondes existent, mais ne permettent pas de répertorier la flore présente dans un échantillon, ni de tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. La recherche des groupes bactériens associés aux différents types de maladies parodontales reste difficile. Nous n'avons qu'une vision très partielle de la flore buccale car ce sont surtout les bactéries viables cultivables qui ont été étudiées. L'approche moléculaire, qui ne nécessite pas une étape de culture, permet de répertorier à la fois les bactéries

viables cultivables, non cultivables, et celles considérées comme « mortes ». Les puces à ADN pourraient ainsi apporter des informations intéressantes sur la diversité de la flore présente dans un site et sur les synergies pathogènes.

Traitement des maladies parodontales et effet de la thérapie sur le microbiota sous-gingival

Le traitement des maladies parodontales a pour objectif de stopper la destruction du parodonte et rétablir un microbiota compatible avec la santé parodontale. Globalement, le traitement comprend un débridement mécanique, un détartrage/surfaçage, l'élimination des facteurs de rétention de plaque, des conseils en hygiène orale et une approche microbiologique.

Le but de toute forme de thérapie anti-infectieuse est de diminuer le taux de pathogènes et de maintenir ou même d'augmenter le taux d'espèces bénéfiques ou compatibles avec l'hôte. Cet objectif peut être atteint avec ou sans l'utilisation d'agents antimicrobiens, selon les cas. L'irrigation antiseptique des poches (chlorhexidine) est parfois effectuée, même s'il n'y a pas de preuve scientifique établie de son efficacité. Une antibiothérapie par voie systémique doit être prescrite chez les patients atteints de maladies parodontales agressives ou nécrotiques, avec de multiples sites actifs, ou présentant un déficit de leur système de défense (patient atteint d'une maladie systémique, ou infectieuse comme le SIDA), ou encore chez les patients « réfractaires » qui n'ont pas répondu au traitement mécanique. Elle permet d'éliminer les réservoirs de bactéries parodontopathiques (*A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *M. micros*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*) : langue, cryptes amygdaliennes, zones inaccessibles à l'instrumentation...

Une monothérapie antibiotique (recommandée par l'AFSSAPS), associée au traitement mécanique, est efficace dans la plupart des cas pour traiter ces infections polymicrobiennes. Elle n'élimine pas forcément toutes les bactéries cibles des poches parodontales, mais elle réduit le nombre total de bactéries, y compris les pathogènes, aux taux des bactéries commensales, pendant une certaine période. De plus, elle désorganise la synergie pathogène en prenant pour cible certaines espèces indispensables au développement du (es) pathogène(s).

Le tableau 3.22 fait une synthèse du spectre usuel des principaux antibiotiques sur les pathogènes isolés dans les maladies parodontales nécessitant une antibiothérapie. Une amoxicilline ou l'association spiramycine + métronidazole est efficace en 1^{re} intention. Toutefois, lors d'une parodontite agressive localisée (ex-PJL), due essentiellement à *A. actinomycetemcomitans*, l'AFSSAPS recommande des cyclines. De même, la présence de bactéries productrices de β -lactamases nécessite, en 2^e intention, l'association amoxicilline + acide clavulanique.

Prévention

La clé de la prévention en parodontologie réside, d'une part dans le dépistage des sujets à risque et, d'autre part dans les conseils d'hygiène et la maintenance des patients traités.

Après un traitement, associé ou non à une antibiothérapie, la réévaluation du parodonte indique si l'approche non chirurgicale est suffisante ou si une chirurgie s'impose. Un examen microbiologique de site permet de vérifier la compatibilité de la flore existante avec la santé du site. Cet examen, renouvelé tous les semestres, permet d'évaluer l'efficacité des traitements initiaux et la stabilité des sites traités. Cette maintenance permet également :

- d'évaluer les indices cliniques;
- de remotiver le patient si nécessaire et de le sensibiliser sur les facteurs de risque;
- d'assurer un détartrage et/ou surfaçage en fonction des sites.

Tableau 3.22 : spectre usuel des antibiotiques sur les principaux germes pathogènes impliqués dans les infections parodontales (sources = AFSSAPS 2001, dossiers ADF 2004, VIDAL 2005).

	β -lactamines	Amoxicilline+ ac. clavulanique	Macrolides Spiramycine Azithromycine Erythromycine	Imidazoles Métronidazole	Lincoamines Clindamycine	Streptogramines Pristinamycine	Cyclines Doxycycline Minocycline	Fluoroquinolones Ciprofloxacine
Bacilles à Gram positif								
<i>Actinomyces</i>	S	S	S	R	S*	S	S*	R
<i>Clostridium</i>	S	S		S	S			
<i>Eubacterium</i>	S	S	S*	S (20-30 %)	S*	S	S*	
Bacilles à Gram négatif								
<i>Acinetobacter</i>	R	R	R		R	R	R	
<i>A. a</i>	S	S	R	R	S*		S*	
<i>Bacteroides</i>	R	S	S (30-60 %)	S	S (5-30 %)	S		
<i>Tannerella</i>	S	S	S	S	S	(fragilis)	S	
<i>Campylobacter</i>	R	S	S	R	S		S	S
<i>C. rectus</i>	S*	S*	S	R	S		(> 10 %)	(0-80 %)
<i>Capnocytophaga</i>	S*	S	S*	R	S		S	
<i>Eikenella corrodens</i>	S*	S	R	R	R		S (> 10 %)	
<i>Escherichia coli</i>	S (30-50 %)	S (10-30 %)	R		R	R	S (20-40 %)	S (0-10 %)
<i>Fusobacterium</i>	S*	S	R	S	S*	S	S (> 10 %)	R
<i>Haemophilus</i>	S (20-35 %)	S	R		R	I	S (10 %)	
			S (azyth)					
<i>Klebsiella</i>	R	S (0-20 %)	R		R	R	S (10-30 %)	S (2-13 %)
<i>P. gingivalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	
<i>P. intermedia/nigrescens</i>	S (60-70 %)	S	S	S*	S	S	S (> 10 %)	
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R		R	R	R	S (1-45 %)
<i>Selenomonas</i>	S (> 10 %)	S	S (> 10 %)	S	S		S	S

	β -lactamines Amoxicilline	Amoxicilline+ ac. clavulanique	Macrolides Spiramycine Azithromycine Erythromycine	Imidazoles Métroimidazole	Lincosamines Clindamycine	Streptogramines Pristinamycine	Cyclines Doxycycline Minocycline	Fluoroquinolones Ciprofloxacine
Cocci à Gram positif								
<i>Micromonas micros</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	S*	S (> 10%)	S*		R			
<i>Peptostreptococcus</i>	S	S	S (30-40 %)	S*	S (20-30 %)	S	S (> 10%)	S (25-30 %)
<i>Staphylococcus méti-S</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
<i>Staphylococcus méti-R</i>	R	R	S (70-80 %)	R	S (70-80 %)	S	S (70-80 %)	R
<i>Streptococcus</i>	S	S	S (30-40 %)	R	S (30-40 %)	S	S (> 10%)	I
Spirochètes								
<i>Treponema</i>	S	S	S				S	

S = sensible ; R = résistant ; I = intermédiaire ; *résistance décrite d'après l'AFSSAPS, juillet 2001. La fréquence de résistance acquise en France est indiquée entre parenthèses (d'après l'AFSSAPS, juillet 2001 et/ou le VIDAL 2005).

Le brossage de la langue et le passage de brossettes (ou de fil) entre les dents doivent être systématisés chez ces patients afin de réduire le nombre d'anaérobies stricts présents dans les cryptes papillaires et les espaces interdentaires. Ces anaérobies (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *T. denticola*) produisent des composés sulfurés volatils (CSV) [hydrogène sulfuré (H_2S), méthyl-mercaptan (CH_3SH), sulfure de diméthyle (CH_3)₂S et disulfure de diméthyle ($CH_3-S-S-CH_3$)] à partir d'acides aminés contenant des groupes sulfurés (cystéine, méthionine, lysine). Ces acides aminés proviennent de la dégradation de protéines ou de peptides alimentaires, salivaires, ou du fluide gingival, par des protéases bactériennes ou de l'hôte. Ces CSV sont les principaux responsables de l'halitose qui accompagne souvent les maladies parodontales et pour laquelle les patients consultent avant même de constater des mobilités dentaires. La qualité de l'hygiène orale de ces patients est primordiale, car la recolonisation des sillons, avec des germes plus compatibles avec une bonne santé parodontale, est déterminée par la qualité et la composition de la flore supra-gingivale, et les défenses de l'hôte. Il s'agit de prévenir la mise en place de groupements bactériens responsables de la pathologie.

Implants et bactéries buccales (O. Barsotti et P. Exbrayat)

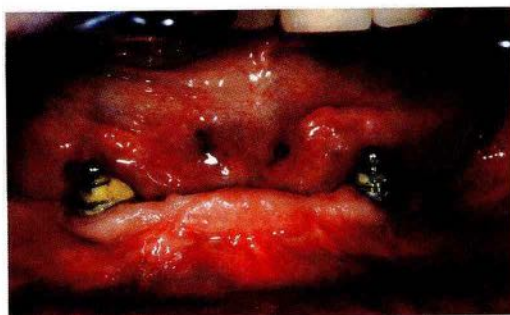
Introduction

L'implantologie dentaire a connu un développement spectaculaire depuis les années quatre-vingt et la révélation des propriétés biologiques du titane par l'équipe du Professeur Bränemark. L'implant est bien souvent la solution de choix, sous réserve que les conditions de santé locale et générale, et que les conditions anatomiques du patient, soient remplies. Chaque année, plusieurs centaines de milliers de patients sont traités dans le monde avec des implants dentaires (100 000 en France et plus de 450 000 en Allemagne, en 2002).

Formation d'un biofilm implantaire

Les implants dentaires, équipés de leur prothèse, ont, à la différence des prothèses orthopédiques, une partie transmuqueuse en contact avec les tissus gingivaux de la cavité buccale, mais aussi avec la salive, riche en protéines et en bactéries. Un biofilm se développe sur ces pièces transmuqueuses et/ou sur les prothèses implantaires, comme à toute interface solide-liquide en milieu biologique (Figure 3.39). Ce biofilm peut conduire à une infection susceptible de détruire les tissus péri-implantaires et entraîner, à terme, la perte de l'implant.

Figure 3.39 : vue clinique de la présence abondante de plaque dentaire et de tartre sur des boutons pressions supra-implantaires (cas clinique Dr P. Exbrayat - Lyon).



L'état de surface et la nature du matériau jouent un rôle sur le développement du biofilm. Ainsi, plus l'état de surface de l'implant est rugueux, plus les bactéries adhèrent, car la surface à coloniser est plus importante. Les imperfections de surface deviennent des niches à bactéries, qui sont à l'abri de la chasse salivaire, du fluide sulculaire péri-implantaire (FSP), des gestes d'hygiène et de la mastication. Mais, ce n'est qu'à partir d'un certain seuil de rugosité ($R_a = 0,2 \mu m$) qu'il existe une corrélation positive entre adhésion bactérienne et rugosité de surface. Si la rugosité moyenne des surfaces de titane est inférieure à ce seuil, elle n'intervient pas dans la colonisation bactérienne des pièces implantaires. L'énergie libre de surface (ELS) du matériau et des bactéries influence significativement la quantité de bactéries déposées. Des bactéries hydrophobes, à faible ELS, adhèrent plus sur des matériaux hydrophobes et moins sur des matériaux hydrophiles. La nature physico-chimique du matériau influencerait également la composition du biofilm, mais indirectement, en jouant un rôle sur la composition, la densité et la configuration de la pellicule acquise exogène (PAE). Son ELS, par exemple, détermine le type de protéines adsorbées de la PAE, et en conséquence les espèces bactériennes pionnières qui s'y fixent. Il y aurait une corrélation entre le type de protéines adsorbées et l'énergie libre de surface du matériau. Cette couche de biomolécules initiales serait un facteur déterminant dans l'adhésion bactérienne car elle conditionne la force de liaison entre le biomatériau et les bactéries du biofilm, intervenant ainsi dans l'aptitude à éliminer ce biofilm des surfaces dentaires naturelles ou artificielles.

Pour certains, la formation d'un biofilm dentaire sur les surfaces solides est majoritairement influencée par l'environnement buccal, et non par des paramètres inhérents aux surfaces. Le film protéique (PAE) adsorbé sur chaque support masquerait leurs propriétés spécifiques, dans la cavité buccale. La formation d'un biofilm sur le titane et sur les autres matériaux dépendrait principalement de leur position dans la cavité buccale. L'adhésion ne dépendrait donc ni des espèces bactériennes ni des surfaces solides, mais de critères écologiques, morphologiques et physiques tels que l'ensemble des forces résultant des mouvements de la langue et des courants salivaires (ou caractéristiques hydrodynamiques du fluide de la cavité buccale).

Actuellement, plusieurs tests normalisés permettent d'évaluer les propriétés mécaniques, la biocompatibilité (inerte en bouche, c'est-à-dire non toxique pour les tissus) et la résistance à la corrosion des matériaux dentaires, mais il n'existe pas de test ou de norme appropriés aux interactions matériaux dentaires/flore buccale. Pourtant, l'importance de connaître le comportement de ces matériaux vis-à-vis de la flore buccale n'est plus mise en doute, en particulier leur capacité à permettre la formation d'un biofilm, voire de sélectionner certaines espèces bactériennes parodontopathogènes.

Flore habituelle d'un biofilm implantaire

Composition

La microflore des sites péri-implantaires sains est peu abondante. Elle est composée essentiellement de cocci à Gram positif, dont 75 à 80 % sont des streptocoques (*S. mitis*, *S. mutans*, *S. sanguinis*) et *Micromonas micros*. *S. sanguinis* serait l'espèce pionnière dans la colonisation des implants. Les autres cocci sont surtout des *Staphylococcus* coagulase-négative et des *Micrococcus*, pour les bactéries à Gram positif, et *Veillonella parvula*, pour celles à Gram négatif. Quelques bacilles à Gram positif sont régulièrement retrouvés (*Actinomyces naeslundii* genospecies 1 et 2, *A. odontolyticus*). Par contre, les *Bacteroidaceae* à pigmentation noire (BPN), du genre *Porphyromonas* ou *Prevotella*, sont rarissimes ainsi que les bactéries mobiles, dont les spirochètes. Lors du développement du biofilm implantaire, il y a une dérive anaérobie avec une diminution des cocci et une augmentation des bacilles anaérobies, en particulier *Fusobacterium* spp., et de certains bacilles mobiles comme les spirochètes

(*Treponema* spp.). La proportion de spirochètes et de bactéries mobiles augmente également avec la durée d'exposition intra-buccale des implants.

Origine

La flore des implants dérive de la flore naturelle de la cavité buccale avant l'implantation, celle-ci étant différente chez l'édenté partiel et l'édenté total.

Chez l'édenté partiel, la composition de la flore microbienne, supra- et sous-gingivale, est identique autour des dents et des implants. Les dents et les muqueuses, en particulier la langue, servent de réservoirs bactériens pour la colonisation initiale des implants. La plaque sous-gingivale est une source importante pour la colonisation des nouveaux implants. Et, si la maladie parodontale du sujet n'a pas été maîtrisée, la flore des poches parodontales sert de réservoir de pathogènes parodontaux, contribuant à la contamination des sites péri-implantaires.

Chez l'édenté total, l'absence de dents, donc de sulci, limite le développement des espèces bactériennes anaérobies. Ce sont les muqueuses buccales, en particulier la langue, qui servent de réservoirs bactériens pour la colonisation initiale des implants dentaires.

La flore implantaire normale d'un édenté partiel diffère de celle d'un édenté total par la présence d'un plus grand nombre de bactéries anaérobies strictes, en particulier de BPN, de *Capnocytophaga* et de spirochètes. La plupart des espèces bactériennes détectées sur les implants sont aussi présentes sur la langue de l'édenté partiel ou total, et sur les dents de l'édenté partiel, avant implantation.

Maladies péri-implantaires : gingivite et parodontite péri-implantaires

Définitions

Un déséquilibre hôte-parasites peut aboutir à 2 syndromes distincts, la gingivite et la parodontite péri-implantaires.

La gingivite péri-implantaire est une inflammation réversible, localisée aux tissus mous superficiels autour de l'implant (Figure 3.40a). Elle est due en général à une accumulation de plaque; l'inflammation disparaît après son élimination.

La parodontite péri-implantaire est un processus inflammatoire destructif touchant les tissus mous et durs autour des implants ostéo-intégrés, conduisant à la formation d'une poche péri-implantaire par la perte de l'os (Figure 3.40b). Elle est caractérisée par une mobilité tardive, après la perte de l'ostéo-intégration. La douleur est inconstante. Une inflammation, voire une suppuration à partir des poches, et une modification de la flore péri-implantaire sont observées. Les patients édentés à la suite d'une maladie parodontale sont à haut risque de développer ce type de pathologie.

Figure 3.40 : maladies péri-implantaires. a) légère gingivite péri-implantaire due au biofilm dentaire. b) parodontite péri-implantaire avec lyse osseuse au niveau de l'implant en 25 (cas cliniques Dr P. Exbrayat - Lyon).



a



b

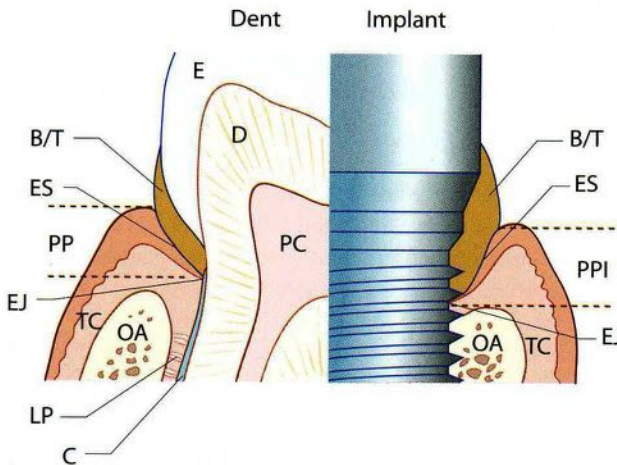
Étiopathogénie de la parodontite péri-implantaire

Le développement de la parodontite péri-implantaire s'apparente à celui de la parodontite (Figure 3.41). La progression parfois rapide des lésions péri-implantaires semble due à une hypovascularisation et à la richesse en collagène de la région supracrestale des implants ostéo-intégrés. Cette région, présentée comme une région de moindre résistance, peut être une porte d'entrée pour la flore pathogène. Dès que le processus de destruction tissulaire est engagé, la nature de la surface de l'implant joue aussi un rôle important, le développement d'un biofilm pouvant être favorisé par la rugosité de la partie infra-osseuse de l'implant, alors mise à nu.

La colonisation bactérienne de la surface implantaire, au niveau de l'attache muqueuse superficielle, crée un stimulus inflammatoire persistant qui entraîne une vasodilatation des vaisseaux péri-implantaires et un accroissement de leur perméabilité. Les mêmes mécanismes de défense sont actifs à la jonction gingivo-dentaire et au niveau de l'attache muqueuse superficielle des implants ostéo-intégrés. Les réponses immunitaires humorales et locales permettent d'expliquer la stabilité à long terme des résultats cliniques malgré la présence continue des bactéries, en particulier la présence de fluide sulculaire péri-implantaire. L'infiltrat autour des implants sains est très semblable au fluide gingival, et la répartition des cellules immunocompétentes dans l'épithélium de jonction, l'épithélium oral et dans le tissu conjonctif infiltré est la même entre les dents et les implants.

Figure 3.41 : comparaison du développement d'une parodontite et d'une parodontite péri-implantaire.

E = émail ; D = dentine ; PC = pulpe camérale ; C = ciment ; LP = ligament parodontal ; OA = os alvéolaire ; TC = tissu conjonctif ; EJ = épithélium de jonction ; ES = épithélium sulculaire ; PP = poche parodontale ; PPI = poche péri-implantaire ; B/T = biofilm/tartre.



Les changements inflammatoires et la destruction du tissu marginal ont été associés principalement à la présence de bacilles à Gram négatif anaérobies stricts ou facultatifs (spirochètes, bactéries mobiles, BPN, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*). Après avoir colonisé l'espace péri-implantaire grâce à

leurs nombreux facteurs d'adhérence (fimbriae, capsule, glycocalyx), ces espèces endommagent les tissus péri-implantaires *via* différents mécanismes :

- La destruction directe des tissus péri-implantaires (protéines, cellules et matrice extracellulaire) par les enzymes bactériens lytiques, principalement des collagénases, peptidases, neuraminidases, chondroïtine-sulfatases, hyaluronidases, et par les métabolites bactériens cytotoxiques (H_2S , NH_4 , amines...).
- La libération de toxines (LPS) qui déclenchent chez certaines cellules du type macrophages, fibroblastes, kératinocytes, présentes dans l'espace péri-implantaire, la synthèse de métalloprotéases matricielles (MMPs). Ces enzymes lytiques clivent les constituants de la matrice extracellulaire.
- Le déclenchement d'une réponse immunitaire, par les antigènes bactériens (LPS des Gram⁻, LTA des Gram⁺), qui aboutit à la libération de médiateurs de l'inflammation, les cytokines, par les macrophages et les lymphocytes. Ces cytokines, à leur tour, activent chez certaines cellules cibles, polynucléaires, macrophages, fibroblastes, ostéoblastes, plusieurs mécanismes de dégradation tissulaire.

La réponse inflammatoire, protectrice au début, est responsable de la perte des tissus de soutien de l'implant. Dans l'espace gingivo-implantaire, les molécules et les cellules de l'immunité générale exercent un contrôle des populations bactériennes. Les polynucléaires neutrophiles accumulés dans les sulci ont tout d'abord une fonction protectrice par phagocytose des bactéries, mais peuvent être à l'origine de phénomènes inflammatoires, en libérant leurs enzymes et en activant les macrophages, qui libèrent à leur tour les médiateurs de l'inflammation. Les polynucléaires neutrophiles sont très importants dans la réponse antibactérienne et leur absence ou leur altération aggrave le processus de destruction de ces tissus, et explique que certains sujets (neutropéniques, sous chimiothérapie) n'aient pas les mêmes chances de réussite implantaire.

Plusieurs facteurs peuvent moduler la réponse de l'hôte à l'agression bactérienne : les facteurs immunitaires, génétiques, hormonaux, le vieillissement, le statut médical du patient (pathologies et prises de médicaments), ses habitudes de vie (nutrition, stress, tabac, drogues, alcool). D'autres facteurs, dits environnementaux, vont faciliter le développement du biofilm (malocclusions, restaurations iatrogènes...) et accroître sa virulence (environnement permettant la croissance des bactéries parodontopathiques, ou permettant aux pathogènes d'exprimer leur virulence).

Flore de la parodontite péri-implantaire

L'évolution vers une flore pathogène se traduit par une augmentation des bacilles à Gram négatif, dont certaines espèces mobiles, et une dérive anaérobie (Figure 3.42). La flore des parodontites péri-implantaires est une flore très complexe comprenant des germes parodontaux classiques (40 % de bacilles anaérobies à Gram négatif), mais aussi des germes inhabituels pour la flore sous-gingivale (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, staphylocoques...) (Tableau 3.23). Ces micro-organismes atypiques sont des pathogènes opportunistes, souvent associés à des parodontites chez des patients présentant une pathologie systémique ou infectieuse (SIDA). Ils sont retrouvés autour des implants défectueux, mais parfois aussi autour des implants stables, leur rôle dans les parodontites péri-implantaires reste à déterminer. Les surfaces transmuqueuses des implants serviraient de niches écologiques artificielles, qui favoriseraient leur implantation dans la cavité buccale. La présence sous-gingivale de ces germes pourrait aussi être due à une colonisation opportuniste secondaire à la prescription d'antibiotiques par voie systémique (antibioprophylaxie, antibiothérapie), ces germes présentant une résistance relative aux antibiotiques habituellement prescrits en implantologie. L'administration par voie topique d'antiseptiques au long cours (chlorhexidine pendant 6 mois) a également été évoquée, ainsi qu'une modification écologique due au stress et à la chirurgie.

Figure 3.42 : coloration de Gram. Flore d'une parodontite péri-implantaire : abondante essentiellement à Gram négatif (Fusobacterium, Porphyromonas, Prevotella, Treponema^{mobile}, Campylobacter^{mobile}, Capnocytophaga^{mobile}) (document Dr O. Barsotti - Laboratoire d'étude des interfaces et des biofilms en odontologie - Faculté d'odontologie - Lyon I).

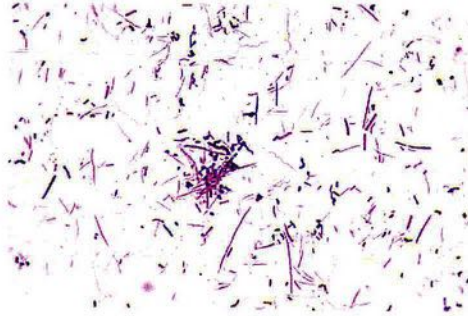


Tableau 3.23 : principales espèces bactériennes présentes dans une parodontite péri-implantaire.

Morphotypes Gramophilie	Anaérobies facultatifs	Anaérobies stricts
Cocci à Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ** <i>Staphylococcus epidermidis</i> ** <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Anaerococcus prevotii</i> * <i>Micromonas micros</i> *
Cocci à Gram-		
Bacilles à Gram+		<i>Actinomyces</i> spp. <i>Eubacterium</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp.
Bacilles à Gram-	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> *, <i>Campylobacter rectus</i> ^{m,*} <i>Capnocytophaga</i> spp. ^{m,*} <i>Escherichia coli</i> ** <i>Klebsiella</i> spp.** <i>Pseudomonas</i> spp. ^{sm**}	<i>Fusobacterium</i> spp.* <i>Porphyromonas gingivalis</i> * <i>Prevotella intermedia</i> * <i>Prevotella nigrescens</i> * <i>Treponema</i> spp. ^{m,*}

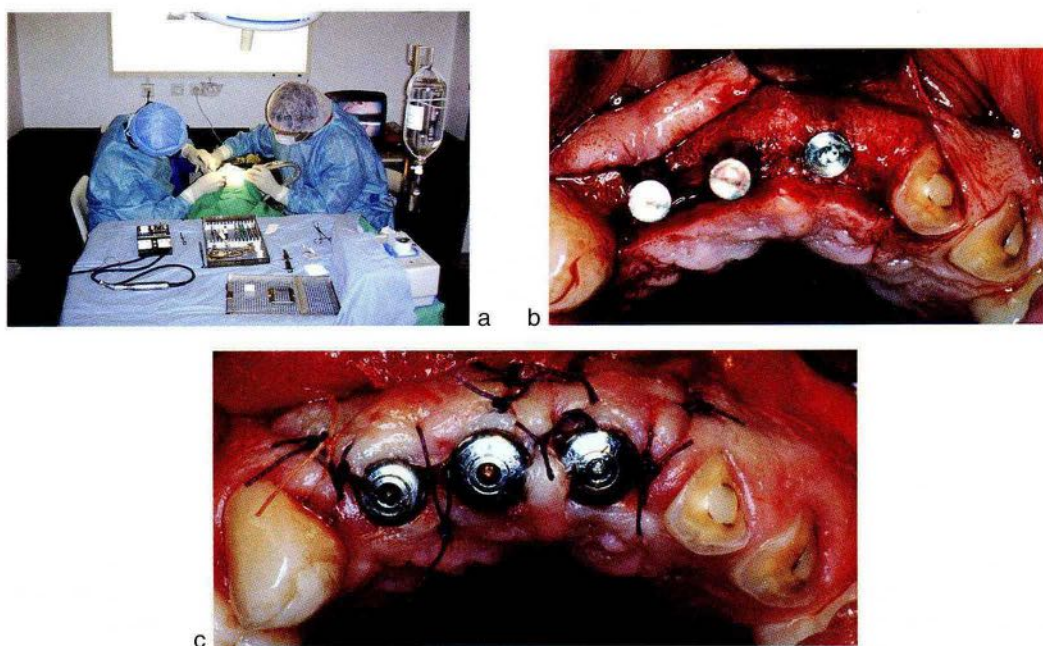
*Germes parodontaux classiques ; ** Germes inhabituels ; m = bactéries mobiles ; sm = mobilité par saccades

Traitement des échecs implantaires d'origine infectieuse

De nombreux travaux montrent le potentiel de cicatrisation des tissus péri-implantaires après suppression du microbiota par des moyens mécaniques et chimiques. Aujourd'hui, de nombreux implants ont des surfaces infra-osseuses rugueuses qui améliorent leur ostéo-intégration, augmentant ainsi leur stabilité primaire. Mais, ces surfaces, exposées par la parodontite péri-implantaire, peuvent alors être contaminées par les bactéries. Le débridement mécanique de telles surfaces est difficile, a un effet limité et ne peut prétendre éliminer toutes les bactéries. L'addition d'agents chimiques est discutée. Il semble qu'une diminution non spécifique de la quantité de bactéries présentes dans la poche péri-implantaire (détartrage + irrigation antiseptique des poches), associée à une suppression des pathogènes spécifiques (antibiothérapie par voie systémique), améliore les symptômes, et suffit parfois à rétablir l'équilibre entre le microbiota péri-implantaire et les défenses de l'hôte. Il s'agit de favoriser l'implantation d'une flore compatible avec la santé des tissus péri-implantaires, flore essentiellement

- barrière à d'éventuels pathogènes exogènes ou au développement de pathogènes opportunistes. Il faut penser au brossage de la langue, réservoir de nombreux germes anaérobies parodontopathiques.
- La mise en fonction. La prothèse doit être parfaitement équilibrée car tout traumatisme occlusal est directement transmis à l'os, sous forme d'une surcharge, préjudiciable à l'ostéo-intégration. En effet, l'implant, contrairement à la dent naturelle, n'a pas de ligament parodontal qui pourrait assurer l'amortissement avec l'os.

Figure 3.43 : risques de contamination pendant la mise en place des pièces implantaires. a) vue globale du bloc opératoire lors d'une intervention de chirurgie implantaire. b) mise en place des implants. c) mise en contact avec le milieu extérieur : pose de bagues parodontales, ou piliers de cicatrisation, prolongeant les implants dans le milieu buccal et sur lesquels les bactéries peuvent adhérer (cas clinique Dr P. Exbrayat - Lyon).



Après la mise en place de la prothèse implantaire

L'hygiène est primordiale dans les premières semaines de mise en charge, pour les mêmes raisons que pour les piliers de cicatrisation, permettre le développement d'un microbiota physiologique. Et, il faudra veiller à ce que les prothèses implantaires permettent aux patients de maîtriser le développement d'un biofilm (Figure 3.44). Chez les patients plus particulièrement à risque de développer une infection péri-implantaire (édentés partiels par maladies parodontales), une surveillance de l'hygiène couplée à une évaluation microbiologique est effectuée (tous les 3 mois la première année, 1 à 2 fois par an ensuite). La flore péri-implantaire est observée au microscope optique après coloration de Gram, pour détecter une augmentation anormale du nombre de bacilles à Gram négatif (Figures 3.45a et b), et au microscope optique à fond noir, afin de repérer un éventuel accroissement du nombre de bactéries mobiles (les bactéries mobiles buccales sont toutes impliquées dans les maladies parodontales et/ou péri-implantaires).

Figure 3.44 : accessibilité à l'hygiène. a) embrasures facilitant le contrôle du biofilm bactérien. b) positionnement trop proche des implants en 24 et 25 ne permettant pas un contrôle de plaque efficace (cas cliniques Dr P. Exbrayat - Lyon).

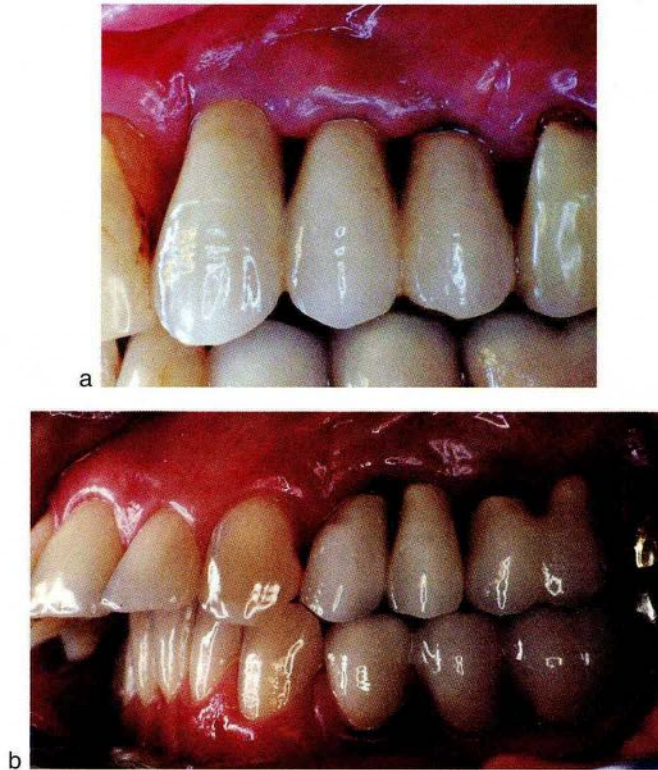
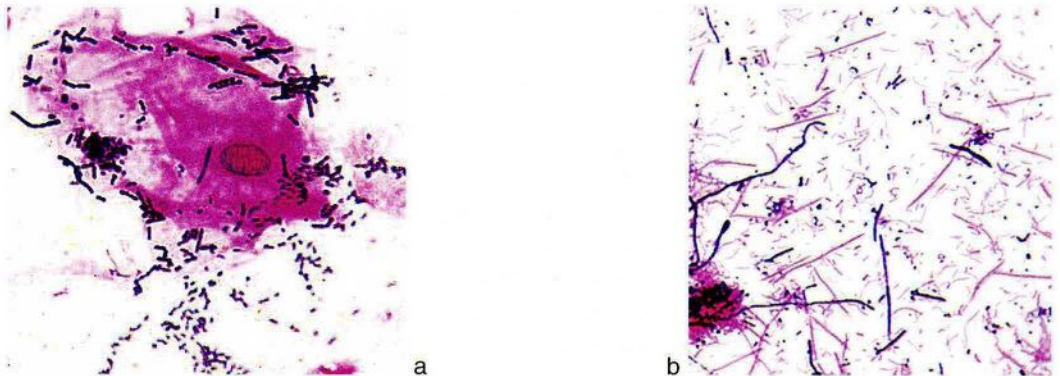


Figure 3.45 : suivi de la microflore d'un site péri-implantaire par coloration de Gram. a) site sain : flore peu dense, essentiellement coccoïde à Gram positif (streptocoques, actinomyces). b) gingivite péri-implantaire : flore abondante, essentiellement à Gram négatif (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Campylobacter*^{mobile}, *Capnocytophaga*^{mobile}) (documents Dr O. Barsotti - Laboratoire d'étude des interfaces et des biofilms en odontologie - Faculté d'odontologie - Lyon I).



Références bibliographiques

- ADF : Dossier « Comprendre et prendre en charge le traitement antibiotique des infections bucco-dentaires », 2004.
- ADF : Dossier « Implantologie orale », 2003.
- AFSSAPS : *Prescription des antibiotiques en odontologie et stomatologie*, 2001.
- Cappuyns I, Gugerli P, Mombelli A : Viruses in periodontal disease – a review. *Oral Dis* 2005; 11, (4) : 219-229.
- Chardin H : *Immunité de la cavité buccale*. EMC 22-009-T-10; p1-12. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier, 2002.
- Charon J et Mouton C : *Parodontie médicale*. Collection JPIO. Éditions CdP, 2003.
- Gemmell E, Seymour J : Immunoregulation control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000* 2004; 35 : 21-41.
- Kuramitsu HK and Ellen RP : *Oral Bacterial Ecology - The molecular basis*. Éditions horizon Scientific press, 2000.
- Mombelli A : Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis. *Periodontology 2000* 2002; 28 : 177-189.
- Mouton C et Robert JC : *Bactériologie bucco-dentaire*. Éditions Masson, Paris, 1994.
- Pellat B, Miller C, Guy D : *Plaque bactérienne dentaire : approche biochimique. Potentiel cariogène et parodontopathogène*. EMC 23-010-A-15; p1-12. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier, 2002.
- Slots J, Contreras A : HerpesViruses : a unifying causative factor in periodontitis? *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15 : 277-280.
- Socransky SS and Haffajee AD : Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* 2005; 38 : 135-187.
- Vidal 2005 - Le dictionnaire - 81^e édition, 2005.

Stomatites infectieuses

Infections virales (J.L. Sixou)

Introduction

De nombreux virus sont retrouvés dans la cavité buccale : dans les biofilms dentaires, au niveau de la salive, des muqueuses, des amygdales. Ils peuvent être les hôtes :

- des cellules des tissus mous buccaux et péri-buccaux ;
- des cellules de défenses de ces tissus, de la salive, du fluide gingival et du sang périphérique ;
- des ganglions nerveux et nerfs innervant la cavité buccale.

Ces virus peuvent être la cause de pathologies buccales uniquement, de pathologies essentiellement buccales avec répercussion au niveau général, de pathologies générales avec répercussions au niveau buccal, et de pathologies générales. D'autres virus dont l'habitat et le mode de transmission sont sans rapport avec la cavité buccale provoquent des manifestations buccales.

Infections à herpesvirus

Gingivo-stomatite herpétique

La gingivo-stomatite herpétique est la forme symptomatique des primo-infections à Herpes Simplex Virus (HSV). Elle est rencontrée dans 5 à 10 % des cas de primo-infection. Elle touche essentiellement des sujets jeunes, prenant une forme aiguë, parfois subaiguë. La fréquence est plus importante chez les sujets immuno-déprimés, en particulier porteurs de HIV.

Tableau clinique

Le temps d'incubation est en général de 6 à 8 jours, avec de grandes variations individuelles (1 à 26 jours). La forme aiguë établie présente des signes généraux et buccaux. Les signes généraux associent une fièvre élevée pouvant atteindre, voire dépasser, de façon durable les 40 °C, une asthénie et des adénopathies cervicales. Les signes buccaux associent une gingivo-stomatite, une pharyngite et une hypersialorrhée. Les lésions sont exsudatives ou ulcéreuses, parfois hémorragiques. Elles touchent toutes les muqueuses de la cavité buccale voire la zone pharyngée. Dans certaines formes, la gencive est principalement atteinte. Des zones pétéchiales peuvent être rencontrées.

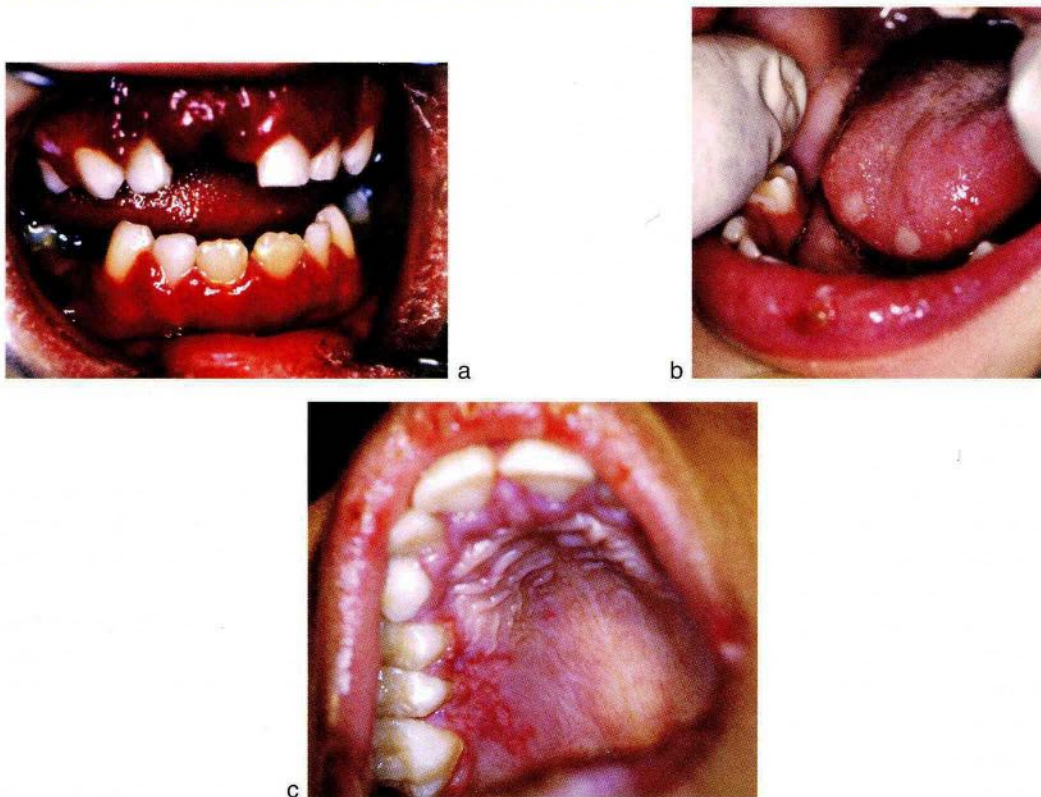
Les premières manifestations sont très variables dans leurs formes et dans leur localisation (Figure 3.46). Des lésions peuvent apparaître en différents points de la cavité buccale ou des voies pharyngiennes supérieures, comme être localisées en un site précis. La phase de gingivo-stomatite peut précéder la généralisation buccale des lésions. Quand l'infection est installée, l'alimentation est difficile voire impossible, le patient peut devenir irritable. Une fièvre ne cédant pas aux anti-pyrétiques, une asthénie marquée liée à l'infection et la sous-alimentation peuvent conduire à une hospitalisation du sujet malade. Chez l'adolescent, la primo-infection peut prendre une forme pseudo-aphteuse.

Dans les formes subaiguës, les lésions sont moins nombreuses, avec peu ou pas de manifestations générales.

Diagnostic différentiel

Le diagnostic est généralement aisé lorsque l'infection est établie. Dans les premiers temps, le diagnostic différentiel devra être fait avec le syndrome main-pied-bouche, l'angine de Vincent, la gingivite streptococcique de Mead, la pharyngite diphtérique ou streptococcique, l'herpangine, la mononucléose infectieuse, les stomatites aphteuses, le syndrome de Stevens-Johnson.

Figure 3.46 : manifestations buccales de la primo-infection herpétique.



Des examens de laboratoire peuvent être utilisés en cas de doute : préparation de Tzanck, biopsie, culture et identification virale, ou tests sérologiques.

Évolution

En l'absence de trouble systémique associé, le retour à normale se produit en 7 à 14 jours. Certaines lésions persistent plusieurs jours après la fin des autres signes. Elles constituent une gêne à l'alimentation et saignent facilement. Des manifestations cutanées sont possibles, notamment digitales si l'enfant porte les doigts à la bouche.

Chez le patient immuno-déprimé, les manifestations sont plus importantes avec risque d'extension à d'autres muqueuses.

Le personnel soignant ne doit pas négliger le risque de contamination vis-à-vis des autres patients, mais également de lui-même, notamment au niveau cutané. Les kératites herpétiques peuvent limiter définitivement l'acuité visuelle.

Traitement

Le traitement associe des médicaments administrés par voie générale et d'application topique.

Les traitements généraux concernent essentiellement les antipyrétiques, les antiviraux et les antalgiques. Le point le plus important chez le sujet jeune est le contrôle de l'hyperthermie. Cette dernière peut être responsable de convulsions conduisant à des lésions cérébrales voire au décès du patient.

Le paracétamol, analgique et antipyrétique, est la molécule de choix. Sa posologie est de 60 mg/kg/24 heures chez l'enfant. Le traitement par un antiviral est efficace s'il est entrepris dès les premiers signes (soit dans les 2 ou 3 premiers jours). Chez le sujet de plus de 12 ans, le valaciclovir est administré à raison de 500 mg *per os* deux fois par jour. Chez le sujet de moins de 12 ans, la molécule de choix reste l'aciclovir (*per os*) fonction du poids (15 mg/kg x 5 prises/24 heures pendant 7 jours). La durée du traitement est habituellement de 7 à 10 jours. L'administration d'anti-inflammatoires ou d'antibiotiques pour éviter une surinfection n'est pas nécessaire.

L'application topique d'un antiviral n'est pas nécessaire. Par contre, l'application topique d'un antalgique peut être effectuée sous forme de gel (de type Xylocaïne gel®), notamment avant les repas. Son administration va permettre au patient de s'alimenter, mais sa durée d'action est courte. Cette forme n'est pas utilisée chez l'enfant de moins de 6 ans, ou strictement limitée à la zone labiale.

Herpès labial

L'herpès labial est une récurrence d'infection à HSV. Il existe plusieurs facteurs favorisant l'apparition des récurrences : stress, fatigue, exposition au soleil.

Tableau clinique

Les signes prodromiques sont généralement une sensation de chaleur, des picotements, voire un prurit. Les lésions, de localisation variable au niveau des lèvres, apparaissent en général en 24 à 72 heures. La guérison des lésions est obtenue en 7 à 10 jours. En certains sites, la mobilisation des lèvres lors de différentes fonctions entraîne un retard de cicatrisation des lésions.

Des formes atypiques intra-buccales (gingivales, muqueuses) peuvent survenir. Ces formes peuvent durer plus longtemps que celles labiales du fait d'irritations chroniques. Chez le patient immuno-déprimé, par exemple porteur du HIV ou en chimiothérapie immuno-suppressive, les manifestations peuvent être importantes, proches de celles de la primo-infection.

Traitement

L'application d'aciclovir topique dès les premiers signes (sensation de chaleur, léger œdème...) est efficace pour en prévenir l'apparition ou en limiter l'importance.

Varicelle

La varicelle est la primo-infection par le varicelle-zona virus (VZV). C'est une maladie très contagieuse chez l'enfant. Un déclenchement est possible chez l'adulte n'ayant pas eu de varicelle pendant l'enfance.

Tableau clinique

Les signes généraux associent une fièvre élevée, une asthénie, des adénopathies, un exanthème cutané touchant la face, le scalp puis le tronc. Les lésions, d'aspect rosé initialement, vont donner des vésicules, puis des pustules et se recouvrir d'une croûte. Chez le sujet immuno-compétent, les atteintes buccales sont rares, concernant essentiellement les lèvres et parfois la langue. Une atteinte généralisée des muqueuses buccales peut être rencontrée chez les sujets immuno-déprimés. Les lésions ressemblent à celles habituellement retrouvées avec les herpesvirus.

Zona

Le zona est une récurrence d'infection à VZV. Au niveau buccal, les récurrences apparaissent le plus souvent en suivant les trajets des 5^e et 7^e paires de nerfs crâniens.

Les premiers signes sont souvent une douleur ou une hyperesthésie. Les lésions apparaissent 1 à 7 jours après les premiers symptômes douloureux. Les vésicules disparaissent en 3 semaines. Chez certains patients, la douleur associée est importante.

Le diagnostic différentiel doit être fait avec certaines formes subaiguës de primo-infection herpétique et certaines manifestations aphteuses. La localisation unilatérale dans la cavité buccale permet d'affiner le diagnostic, éventuellement complété par un examen cytologique de la base d'une vésicule mettant en évidence des cellules géantes à noyaux multiples et inclusions acidophiles intranucléaires. Le traitement par valaciclovir *per os* diminue généralement la sévérité et la durée de l'affection chez le sujet immuno-compétent. Le famciclovir peut être administré en prévention des douleurs liées au zona. L'administration doit avoir lieu le plus tôt possible après le début de l'infection.

Mononucléose infectieuse

Dans la majorité des cas, la mononucléose infectieuse est une infection à Epstein-Barr virus (EBV). Elle est due au cytomégalo-virus (HCMV) dans 8% des cas. C'est une maladie peu contagieuse pouvant se transmettre par la salive.

Tableau clinique

Les signes cliniques associent une fièvre, une pharyngo-amygdalite douloureuse, une adénopathie parfois très importante et une hépato-splénomégalie. La forme angineuse est la plus fréquente. Elle se développe en 5 à 7 jours. Certaines formes présentent un exsudat blanchâtre avec lésion formant une membrane. Les manifestations buccales sont plus rares que celles pharyngées et peuvent inclure une gingivite œdémateuse et hémorragique.

Le traitement est essentiellement symptomatique. Les thérapies antivirales sont utilisées chez le patient immuno-déprimé sous traitement anti-rejet de greffe.

Leucoplasie chevelue buccale

La leucoplasie chevelue est une manifestation de l'infection par l'EBV qui est principalement retrouvée chez les individus infectés par le HIV.

Tableau clinique

Cette lésion blanche apparaît sur la partie latérale de la langue. Sa localisation peut être bilatérale. Elle peut s'étendre aux autres faces de la langue et moins communément à la muqueuse buccale. Généralement indolore, elle n'évolue pas vers la malignité.

Traitement

En l'absence de gêne esthétique et/ou fonctionnelle, la leucoplasie chevelue ne nécessite pas d'intervention.

Lymphome de Burkitt

Le lymphome de Burkitt est un lymphome non hodgkinien touchant principalement les enfants, présent à l'état endémique en Papouasie-Nouvelle Guinée et dans une partie de l'Afrique sub-saharienne. Il existe une forme associée à l'infection par HIV. Dans les zones d'endémie, l'EBV est associé à 96% des cas.

Tableau clinique

Ce lymphome se développe essentiellement dans les os de la face. Le maxillaire et la mandibule sont les os les plus atteints. Suite au gonflement provoqué par la tumeur, les premiers signes peuvent se situer au niveau de l'arcade dentaire, y associant une gencive inflammatoire et hémorragique et des déplacements dentaires. Le développement de la tumeur provoque une déformation de la face parfois très importante. L'évolution et l'extension de la tumeur s'accompagnent de l'ulcération des zones atteintes, de la perte des dents de la région.

Sans traitement, il peut entraîner le décès du sujet.

Cancers de l'oropharynx

Certains cancers de l'oropharynx sont associés à une infection par des herpesvirus (EBV, HCMV, HHV-8). L'association à l'EBV concerne surtout le carcinome naso-pharyngé indifférencié, essentiellement retrouvé dans les pays asiatiques. Une prédisposition génétique est possible. La mesure du taux d'anticorps anti-EBV pourrait permettre de dépister les individus à risque de ce type de cancer : les cancers d'origine virale sont ceux qui présentent le plus d'antigènes, donc entraînent le plus de réactions immunitaires.

Sarcome de Kaposi

Le sarcome de Kaposi est une tumeur maligne associée au HHV-8. Classiquement associé à des populations prédisposées (pourtour méditerranéen, certaines régions d'Afrique, patients en immunosuppression), sa prévalence augmente chez les patients présentant un Sida.

Tableau clinique

Cette manifestation tumorale d'aspect violacé avec ou sans ulcération est le plus souvent située au niveau du palais, de la gencive et de la face dorsale de la langue. L'atteinte gingivale est rencontrée dans un quart des cas environ et intéresse essentiellement les faces vestibulaires, la gencive attachée et marginale. Il existe dix morphotypes différents. Le placard muqueux est la forme la plus fréquente de l'aspect initial. Son évolution s'accompagne de l'apparition de nodules semblables à des hémangiomes ou à un granulome à cellules géantes. La tumeur évoluée est constituée de multiples nodules vasculaires pouvant, plus tardivement, atteindre l'os sous-jacent. Le diagnostic différentiel doit être fait avec de nombreuses affections tumorales ou pseudo-tumorales parmi lesquelles l'angiomatose bacillaire, la dermatite sévère et des malformations artério-veineuses.

Infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV)

Pathologies buccales associées

Il a été dénombré plus de 40 types de manifestations buccales liées au HIV. Elles surviennent chez 30 à 80 % des patients infectés, peuvent être la première manifestation clinique et représenter une aide au diagnostic. Leur apparition peut également servir d'indicateur de la dépression immunitaire voire de la charge virale, et aider à la prédiction de la progression de la maladie. Elles présentent des variations selon les populations, en particulier en fonction du sexe et quand on compare les pays développés ou en voie de développement.

Les candidoses, notamment les candidoses pseudo-membraneuses buccales (CPB), sont les pathologies buccales les plus fréquentes quel que soit l'âge ou le sexe des personnes infectées par le HIV (Tableau 3.25). Ce sont le plus souvent des candidoses oropharyngées. Leur présence a été corrélée à la baisse du nombre de lymphocytes TCD4 (< 200 cellules/mm³), à une diminution du rapport TCD4/TCD8 et à une charge virale plasmatique élevée (> 3000 unités virales/mL). Il peut exister des différences entre les différentes régions du monde quant aux pathogènes incriminés dans les infections fongiques.

Les atteintes parodontales sont plus fréquentes que dans la population générale et d'intensité plus importante. Dès le stade de gingivite, la prévalence des pathogènes parodontaux est élevée, même chez les jeunes sujets séropositifs au HIV et/ou sans Sida avéré. L'érythème gingival diffus, caractéristique des immuno-dépressions, est fréquemment retrouvé. L'atteinte carieuse varie selon les populations étudiées. La leucoplasie chevelue et le sarcome de Kaposi semblent être associés au genre masculin et aux comportements à risque de transmission d'homme à homme. Ces lésions sont plus rares chez l'enfant et l'adolescent, mais leur fréquence varie selon les populations d'enfants étudiées.

Tableau 3.25 : principales manifestations buccales liées à l'infection par le HIV.

Manifestations d'origine fongique	
• Candidoses	
	Candidose pseudo-membraneuse : forme la plus fréquente
	Candidose érythémateuse
	Chéilite angulaire
• Histoplasmoses	
Manifestations d'origine bactérienne	
• Parodontales	
	Gingivite marquée, dont érythème gingival linéaire*
	Maladies parodontales nécrotiques (Gingivite et parodontite ulcéro-nécrotiques)
	Parodontites agressives
• Infection à <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
• Infection à <i>Mycobacterium avium complex</i>	
• Angiomatose bacillaire	
• <i>Cancrum oris</i> (plus fréquent en Afrique)	
Manifestations d'infections virales	
• Herpès buccal (lié à <i>Herpes simplex</i>)	
• Zona (lié à <i>Herpes varicelle zona</i>)	
• Ulcères au cytomégalo-virus (HCMV)	
• Leucoplasie chevelue (virus d'Epstein-Barr)	
• Verrues (papillomavirus humain)	
Manifestations néoplasiques	
• Sarcome de Kaposi** (rare chez l'enfant)	
• Lymphomes (non hodgkiniens essentiellement)	
Autres manifestations	
• Parotidite et autres maladies des glandes salivaires	
• Ulcérations buccales (type ulcères aphteux)	
• Purpura thrombocytopénique	
• Anomalies de pigmentation	
• Lymphadénopathies	

* L'érythème linéaire gingival possède souvent une composante fongique

** cofacteur viral (HHV-8)

Influence des thérapeutiques anti-rétrovirales

Il y a encore peu de données sur l'influence du développement des nouvelles thérapies sur la prévalence et l'importance de ces lésions. Cette influence est d'autant plus difficile à évaluer que les études doivent tenir compte, pour les populations étudiées, de l'ancienneté de la contamination, de l'importance de la maladie, de l'âge des participants et de la compliance au traitement.

Malgré des résultats parfois contradictoires entre les différentes études, les trithérapies sont associées à une décroissance de la prévalence des candidoses buccales, dont les candidoses pseudo-membraneuses (CPB). Malgré cette diminution, les CPB restent les manifestations buccales les plus fréquentes chez les patients traités par trithérapie. La baisse de la prévalence d'autres pathologies a également été décrite dans le cadre de ces traitements : leucoplasie chevelue, sarcome de Kaposi, parodontites ulcéro-nécrotiques, verrues.

Infections à papillomavirus (HPV)

Le papillomavirus est essentiellement connu pour être responsable de verrues et du carcinome cervical utérin. Au niveau de la cavité buccale et du carrefour aéro-digestif, il infecte principalement les épithéliums à cellules squameuses. Il peut être associé à des manifestations buccales (Tableau 3.26). Plusieurs modes de contamination ont été évoqués : mère-enfant, relations sexuelles, auto-contamination. L'acquisition peut se faire très tôt dans l'enfance. Chez les jeunes sujets, la contamination buccale peut avoir lieu lors du port des doigts dans la bouche. Les pathologies liées au HPV sont plus fréquentes chez les sujets immuno-déprimés, en particulier atteints du Sida. HPV16 est le génotype prédominant associé aux dégénérescences cancéreuses. Il jouerait un rôle de cofacteur en association à d'autres facteurs : tabagisme, alcool...

Tableau 3.26 : pathologies buccales, pharyngées et laryngées et génotypes associés.

Pathologies	Papillomavirus (génotypes)
Associations fréquentes	
Verrues buccales	HPV6, HPV11
Papillomes buccaux	HPV6, HPV11
Hyperplasie focale épithéliale	HPV13, HPV32
Érythroplasie	HPV16
Carcinome des cellules squameuses (<i>Oral Squamous Cell Carcinoma</i>)	HPV16, HPV18
Papillomatose laryngée	HPV6, HPV11
Associations possibles	
Leucoplasies	
Carcinomes verruqueux buccaux	HPV16
Cancers du pharynx	HPV16
Cancers du larynx	HPV6, HPV16

Traitement

Abstention thérapeutique lorsque les verrues sont de petite taille. Chirurgie, voire biopsie-exérèse, lorsqu'elles deviennent une gêne et/ou qu'il existe un risque de dégénérescence.

Les stomatites à micromycètes (L. Bunetel)

Candidoses

Les levures d'intérêt médical sont responsables de pathologies opportunistes. La contamination est soit d'origine endogène à partir de la flore de l'individu, soit d'origine exogène lors du passage transvaginal pour le nouveau-né, par transmission manuportée ou lors d'un rapport sexuel contaminant. En fonction des sites atteints, les candidoses se développent en superficie ou en profondeur.

Les candidoses superficielles

Atteignent les phanères : la peau et les ongles ainsi que les muqueuses.

Les candidoses cutanées ou intertrigo à *Candida*

Elles siègent au niveau des grands plis ou des petits plis. Elles se présentent sous forme de rougeur inflammatoire, suintante, de contour irrégulier sur laquelle se développe un enduit blanchâtre. Le prurit intense est associé à une sensation de brûlure.

Les périonyxis et onyxis

Le périonyxis siège à la base de l'ongle. C'est un bourrelet inflammatoire, rouge et douloureux. À la pression, il laisse sourdre du pus. L'onyxis est une atteinte de l'ongle toujours secondaire à un périonyxis.

Candidoses des muqueuses*Muqueuse digestive*

La perlèche est une lésion triangulaire de la commissure des lèvres pouvant s'étendre sur les joues. La surface est sèche, squameuse, blanchâtre et douloureuse avec une ouverture de la bouche difficile. C'est une affection fréquente lors des déficits en vitamines du groupe B et chez les patients atteints de SIDA.

La langue noire villosa est une atteinte du dos de la langue qui devient noir charbon, hérissée de papilles proéminentes cornées. Un autre champignon, *Geotrichum*, peut en être responsable.

Le muguet, dépôts blanchâtres sur la langue, parfois sur les joues et le palais, est fréquent chez l'enfant, les vieillards, les patients atteints de SIDA ou sous chimiothérapie invasive. (Figure 3.47). Un muguet chronique peut s'installer sur un muguet banal mal traité. Cette stomatite évolue par poussées en fonction d'éléments déclenchants ou de l'aggravation d'une maladie générale. Elle s'accompagne de sensations de picotements, de brûlure légère. La bouche est ressentie comme sèche avec une sensation de dysgueusie. Les patients se plaignent d'un goût métallique. Sur le plan clinique, l'érythème est modéré, voire absent. Un enduit grisâtre (qui correspond histologiquement à une parakératose), peu épais, adhère aux muqueuses buccales. Quelques placards kératosiques, plus ou moins étendus, siègent, en particulier sur la face interne des joues.

Candida peut également être responsable d'œsophagite chez les patients atteints de SIDA, de surinfection d'ulcère duodénal ou d'entérite à selles fréquentes et liquides.

Figure 3.47 : candidose buccale (Chirurgie buccale – CHU Rennes).



Les candidoses profondes

Elles atteignent le système respiratoire, le cœur et peuvent disséminer dans tout l'organisme.

Traitement

Candidoses cutanées, onyxis et candidoses buccales : traitements locaux

Polyènes : Fungizone*, amphotéricine B, lotion

Imidazolés : Pévaryl*, Dermasol*, éconazole

Ketoderm*, kétoconazole

Daktarin gel buccal*, miconazole à garder 3 minutes dans la bouche, et ne pas boire dans l'heure qui suit.

Dans tous les cas, le traitement doit être poursuivi 2 à 3 semaines

Candidoses digestives

Polyènes : Mycostatine*, nystatine, 4 à 6 millions d'unités/j

Fungizone*, amphotéricine B, 2 g/j

Imidazolés : Nizoral*, kétoconazole, 200 mg/j

Triflucan*, fluconazole, 100 à 200 mg/j

Dans tous les cas, le traitement doit être poursuivi 2 à 3 semaines. En cas de résistance, des molécules réservées à l'usage hospitalier peuvent être utilisées : Sporanox*, itraconazole; Cancidas*, caspofungine; Vfend*, voriconazole.

Traitement empirique

Chez les immunodéprimés : amphotéricine B.

Chimioprophylaxie

SIDA : Triflucan*, Fluconazole, 200 mg/j à vie.

Sujets soumis à traitement prolongé par antibiotiques à large spectre, corticoïdes ou immunosuppresseurs : amphotéricine B per os au 1/4 de la dose.

Sujets à hauts risques : surveillances mycologique et sérologique.

Histoplasmose à *Histoplasma capsulatum*

Les deux espèces d'*Histoplasma* ont des expressions pathologiques différentes, mais peuvent toutes les deux s'exprimer au niveau de la muqueuse buccale.

Histoplasmose à *Histoplasma capsulatum capsulatum*

Elle évolue en deux temps. La primo-infection est un tableau clinique de pseudo-grippe avec de la fièvre et des douleurs diffuses, survenant après une incubation de 8 à 15 jours. La radiographie pulmonaire montre des opacités disséminées évoquant la tuberculose. La régression est en général spontanée avec calcifications intrapulmonaires décelables après la guérison.

La forme disséminée correspond à l'absence de guérison spontanée de la forme précédente et à sa dissémination à l'ensemble du système réticulo-endothélial. Le patient présente une fièvre élevée, des lésions ganglionnaires, des atteintes hépatique, splénique, médullaire, nerveuse, et cardiaque ainsi que des lésions buccales caractéristiques dans 25 % à 45 % des cas. Les lésions buccales commencent par une tache érythémateuse douloureuse, souple à la palpation pour évoluer vers une ulcération granuleuse nodulaire. Les zones le plus fréquemment atteintes sont le palais, la gencive avec perte osseuse ainsi que l'oropharynx. Chez le patient infecté par le HIV, l'histoplasmose peut être inaugurale et l'association possible avec d'autres infections virales (Herpès ou HCMV) rend le diagnostic difficile. Toujours mortelle en l'absence de traitement, la dissémination peut se produire très longtemps après l'infestation.

Les formes chroniques sont toujours pulmonaires et apparaissent à la suite de réinfestations endogènes ou exogènes (sol).

Histoplasmose à *Histoplasma capsulatum duboisii*

Elle présente une prédominance des lésions cutanées, sous-cutanées, ostéo-articulaires ou orales d'évolution lente et bénigne, mais la dissémination viscérale est possible et peut être mortelle.

Traitement

La forme primaire américaine fait l'objet d'une abstention thérapeutique ou, par prudence, d'un traitement au kétoconazole, Nizoral*.

La forme disséminée est traitée par kétoconazole, Nizoral* : 400 à 800 mg par jour pendant 3 à 5 mois ou itraconazole, Sporanox* : 400 mg/jour ou enfin, si échec : amphotéricine B, Fungizone* 0,5 à 1 mg/kg/jour en perfusions toutes les 48 à 72 heures pendant 2 mois.

La forme africaine est traitée de la même manière mais plus longtemps : 6 à 12 mois et une chirurgie d'exérèse y est souvent associée.

Chez les patients immunodéprimés, le traitement doit être poursuivi aussi longtemps que dure l'immunodépression afin d'éviter les récurrences qui sont très fréquentes.

Blastomycose à *Blastomyces dermatitidis*

Les manifestations cliniques de la blastomycose sont très variables et peu spécifiques. Le diagnostic en est souvent posé tardivement après élimination d'autres pathologies plus courantes.

La maladie débute par une lésion primaire pulmonaire qui peut passer inaperçue malgré des images radiographiques d'infiltrat alvéolaire. L'évolution se traduit par une aggravation avec deux aspects cliniques possibles :

- la forme généralisée se manifeste par une accentuation des signes pulmonaires et des localisations multiples au niveau des os : ostéomyélite, du foie, des reins, du système nerveux central : abcès. Le diagnostic différentiel devra être fait avec la tuberculose, les cancers du poumon, les cancers de la peau et l'histoplasmose américaine ;
- la forme cutanée est une forme verruqueuse chronique caractérisée par des lésions de type papule qui évoluent en pustule hémorragique à extension centrifuge, réalisant une sorte de verrue siégeant sur les parties découvertes : face, mains et pieds. Le diagnostic différentiel devra être fait avec une panniculite ou la maladie de Weber-Christian.

Les lésions secondaires de la bouche ou de l'oropharynx sont moins fréquentes que pour *Histoplasma*. Le larynx est le plus souvent touché. Le diagnostic différentiel est un carcinome laryngal.

Traitement

L'amphotéricine B en cures prolongées et répétées permet la guérison des formes profondes, mais ne fait que ralentir l'évolution des formes cutanées.

Le traitement des formes cutanées est le kétoconazole, Nizoral* : 400 mg/j pendant 2 mois ou l'itraconazole, Sporanox* : 400 mg/j.

Les patients immunodéprimés recevront en première intention de l'amphotéricine B relayée par un imidazolé par voie orale jusqu'à la fin de l'immunodépression.

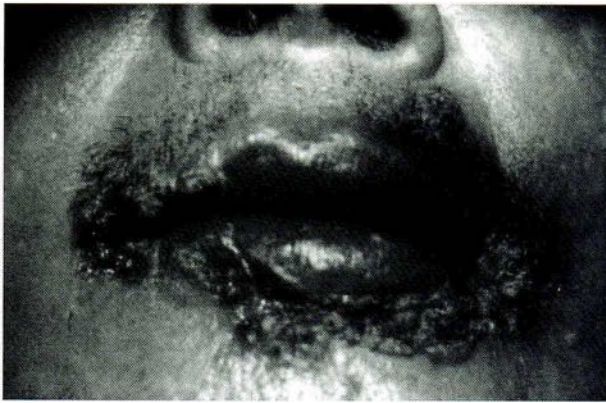
Paracoccidioidomycose à *Paracoccidioides brasiliensis*

Les infections à *Paracoccidioides* déterminent une paracoccidioidomycose. L'homme s'infeste en inhalant les spores émises par le mycélium ou en utilisant des végétaux comme cure-dents. Les formes cutanéomuqueuses atteignent les lèvres, les narines, la bouche avec formation de papules puis de

lésions granulomateuses ulcérées réalisant d'importantes mutilations de la face. L'élargissement et la déformation des deux lèvres de manière asymétrique sont fréquemment observés. Lorsque la bouche est atteinte, les atteintes peuvent être multifocales. Les lésions sont gingivales avec perte osseuse, linguales et palatines. Les ulcérations en forme de mûre, d'aspect granulomateux, sont ponctuées de spots hémorragiques (Figure 3.48).

Les formes profondes atteignent les ganglions et les viscères : poumons, intestin, rate, foie et rein, le système nerveux et les os.

Figure 3.48 : *Paracoccidioidomycose* : lésions péri-buccales.



Traitement

Les cas graves sont traités par l'amphotéricine B, Fungizone*, le kétoconazole, Nizoral ou l'itraconazole, Sporanox*, les autres par les sulfamides ou le triméthoprim-sulfaméthoxazole, Bactrim*.

Aspergillose

Une dizaine d'espèces d'*Aspergillus* sont responsables d'affections chez l'homme : les aspergilloses. La plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine, dans les pays tempérés, est *A. fumigatus*.

Les affections provoquées par les *Aspergillus* peuvent être classées en deux catégories : les affections liées à la prolifération du champignon et les affections entraînant une sensibilisation allergique.

Aspergillose des voies respiratoires

Affections liées à la prolifération du champignon

Ces affections sont liées à l'inhalation des spores très fréquentes dans l'air respiré qui entraînent des formes invasives primaire ou secondaire et des formes non invasives secondaires.

La forme invasive primaire est une infection qui résulte d'une exposition prolongée et répétée dans un milieu contenant un très grand nombre de spores. Il s'agit d'un désordre rare qui peut toucher un individu aux défenses immunitaires saines. Le germe responsable est *A. fumigatus*.

La forme invasive secondaire correspond à l'envahissement du parenchyme pulmonaire constituant une pneumopathie chez les sujets à haut risque. Elle se caractérise par de la fièvre à 40 °C, une dyspnée intense, de la toux et des opacités pulmonaires diffuses à la radiographie.

C'est une maladie grave, la dissémination extrapulmonaire est possible réalisant une aspergillose généralisée au SNC, au rein, à la peau ou au cœur. Les germes responsables sont *A. fumigatus* et *A. flavus*.

Les myiases orales sont connues sous le nom de myiases dentaires ou myiases gingivales. Il s'agit d'infection larvaire des tissus de la cavité buccale. Plusieurs cas isolés décrits dans la littérature montrent qu'il n'existe pas d'âge, pas de prédilection pour le sexe. Les facteurs communs de prédisposition pour les myiases orales sont la présence d'une plaie dans la cavité buccale (tels qu'un site d'extraction, des gingivites ou parodontites sévères), les morsures en particulier chez l'épileptique, l'alcoolisme, la sénilité, les retards mentaux. Un cas de myiase orale a été décrit chez un patient atteint d'un NOMA et chez un patient présentant une fracture mandibulaire. La respiration buccale durant le sommeil facilite le développement de la myiase orale.

À la lecture des différents cas rapportés, il apparaît qu'une plaie quelle que soit son origine est nécessaire pour le développement d'une myiase seule. L'agent causal le plus communément retrouvé dans les myiases orales appartient à la famille des calliphoridae genre *Calliphora*. *Calliphora vicina* et *Calliphora vomitoria* sont les deux espèces les plus importantes. Un cas de myiase orale chez une patiente atteinte d'une parodontite chronique due à *Cochliomyia hominivorax* a été décrit.

La symptomatologie clinique est identique quel que soit le diptère responsable. Les patients présentent une douleur localisée, un saignement et une démangeaison. Un cas a été décrit sans aucun symptôme ressenti par le patient âgé de 12 ans. L'examen oral révèle la présence de larves actives localisées dans un tissu érythémateux, oedématisé et hémorragique. Dans la plupart des cas, des larves se creusent un « terrier » sous la muqueuse buccale laissant un orifice d'où la larve peut s'extraire. L'identification de l'agent causal est difficile : elle doit être réalisée par un entomologiste et la larve doit être suffisamment évoluée pour l'identification au rang de genre.

Le traitement consiste en l'extirpation des larves sous irrigation. Un traitement à l'éther peut être nécessaire pour faciliter leur extirpation. L'ivermectine est utilisée aujourd'hui (200 µg/kg en prise unique, en pratique : 6 mg/30 kg, répété si nécessaire après 24 heures).

Des antibiotiques doivent être prescrits avec une remise en état de la cavité buccale après disparition des larves.

Avec l'augmentation des voyageurs étrangers, l'incidence de cas importés de myiases orales, comme pour les autres pathologies tropicales, pourra augmenter.

Cysticercoses

Les cysticercoses localisées à la cavité buccale ont été rapportées dans une soixantaine de cas. Les localisations les plus fréquentes sont la langue, les lèvres et la muqueuse buccale. Un cas a été décrit dans le masseter. L'âge des individus varie de 3 à 70 ans, en moyenne 22 ans sans prédominance pour un sexe. Les lésions sont des nodules discrets, fermes, non adhérents sous une muqueuse intacte. Les nodules ne sont pas douloureux, ils ont une taille de 0,5 à 1 cm. Il n'y a pas d'adénopathies satellites. Ils peuvent être confondus avec les mucocèles (phénomènes de rétention de mucus ou extravasation de mucus). Le diagnostic différentiel pour ces lésions inclut les entités vasculaires (hémangiomes ou varices) et glandulaires (carcinome muco-épidermoïde).

Le diagnostic de cysticercose est confirmé par les techniques de radiologie, la sérologie et les biopsies tissulaires. Les techniques de radiologies les plus informatives sont le scanner et l'IRM. L'immunodiagnostic peut être effectué sur des prélèvements de sérum, de salive ou de LCR bien qu'il puisse ne pas être informatif dans le cas de lésion unique ou de lésions calcifiées.

La biopsie reste la plus informative. Récemment, une technique cytologique après aspiration à l'aiguille a été décrite. Les lésions peuvent exister depuis un mois à trois ans.

Le diagnostic précoce permet de mettre en œuvre une thérapeutique, comme le pranziquantel ou l'albendazol, pour éviter une chirurgie dans des sites peu accessibles et l'extension du nombre de localisations.

sillon gingivo-dentaire et dans les cryptes amygdaliennes. Ils se nourrissent de particules alimentaires, de bactéries, de mycètes.

Bien que plus fréquemment rencontrés chez les patients atteints de parodontopathies, il n'est pas possible de savoir si ils sont opportunistes ou pathogènes. Ces parasites sont des commensaux de la cavité buccale et n'entraînent pas *a priori* de pathologies. La contamination est directe ou médiate (doigts souillés de salive, cuillère, fruits partagés en croquant).

Le diagnostic se fait par examen direct du biofilm ou par culture dans un milieu spécifique. Pour le traitement, une hygiène dentaire stricte est recommandée.

Leishmanioses

La leishmaniose viscérale (maladie de Kala Azar) constitue la forme la plus grave de la maladie. Elle est causée par *Leishmania donovani* en Afrique et en Inde, par *Leishmania infantum* dans les régions méditerranéennes, et par *Leishmania chagasi* en Amérique.

La leishmaniose cutanée est causée par *Leishmania tropica* ou *Leishmania mexicana*. L'incubation silencieuse dure d'un à plusieurs mois. La lésion est unique ou multiple; elle siège le plus souvent au niveau de la face ou des membres. La lésion débutante correspond à une papule rouge carmin qui s'étend progressivement en surface et s'infiltré en profondeur. La lésion évolue et est constituée après quelques semaines en ulcération croûteuse avec un halo inflammatoire de quelques centimètres de diamètre. Classiquement, la lésion émet des prolongements en profondeur. Elle est parfois prurigineuse, elle n'est jamais douloureuse. Elle évolue vers un comblement de l'ulcère et l'apparition d'une cicatrice souvent inesthétique et indélébile.

Le diagnostic différentiel avec les infections cutanées de type furoncle ou impétigo est difficile aux premiers stades. L'absence de signes inflammatoires et de douleurs est le critère descriptif fondamental. L'anatomopathologie après biopsie confirme le diagnostic ainsi que la culture positive.

Leishmania braziliensis est responsable des formes cutanéomuqueuses. Dans la littérature récente, des cas de leishmaniose cutanéomuqueuses ont été rapportés, dus à *Leishmania infantum*, ou à *L. panamensis* ou *L. guyanensis*.

La leishmaniose cutanéomuqueuse se distingue de la leishmaniose cutanée par une ulcération plus extensive, plus profonde et d'évolution torpide, par une propagation cutanée à distance, enfin et surtout par une atteinte des muqueuses de la face souvent extrêmement mutilante. Cliniquement, les lésions siègent au niveau du larynx, de la muqueuse orale ou des lèvres. La plupart des lésions apparaissent comme une ulcération ou un érythème sans saignement. Des leishmanias ont été retrouvées chez des patients atteints du Sida.

Les manifestations associées sont dépendantes de la localisation. Au niveau nasal, le patient souffre d'obstruction nasale. Au niveau buccal, il a une difficulté à la déglutition et à la phonation.

Le diagnostic différentiel est difficile avec les néoplasies. Aucune anomalie biologique n'est retrouvée. Les parasites sont identifiés sur les «smears» ou sur des coupes colorées au Giemsa ou à l'hématoxyline éosine.

Le traitement est généralement à base de sels pentavalents de l'antimoine ou de sels de pentamidine par voie intramusculaire. Des traitements à base de sulfate de zinc sont actuellement proposés, par voie orale ou en injection dans la lésion.

Références bibliographiques

Voir «Micromycètes» et «zooparasites», première partie.

Les infections bactériennes à porte d'entrée buccale (S. Jeanne)

Modalités de la dissémination bactérienne

La pyophagie

Le mode le plus évident de contamination à distance par les bactéries de la cavité buccale est assurément la déglutition de substances septiques. Le biofilm buccal constitue un réservoir bactérien et une source de transmission. Pour exemple, *Helicobacter pylori*, agent étiologique majeur des gastrites chroniques, est retrouvé au sein de la plaque dentaire où il adhère sélectivement à *Fusobacterium nucleatum*. Pathogène opportuniste commensal, *F. nucleatum* est un colonisateur primaire largement impliqué dans les phénomènes de coopération bactérienne de la colonisation endobuccale. Certains germes supposés intervenir dans la maladie de Crohn sont également impliqués dans l'étiopathogénie parodontale (*Campylobacter rectus*).

La bactériémie et la toxémie

La bactériémie traduit la présence de bactéries dans le sang circulant, alors que la toxémie exprime l'accumulation excessive dans le sang de toxines bactériennes. Le passage des bactéries dans la circulation sanguine ou lymphatique peut résulter d'une action mécanique. Ainsi, lors d'avulsions dentaires, du détartrage, du passage de fil dentaire ou de brossettes, du brossage et même de la mastication, il existe une bactériémie passagère modérée. Le nombre de bactéries qui entrent dans la circulation sanguine lors de traitements dentaires est estimé à 1 à 10 bactéries par millilitre de sang, avec une chute de ce taux de 10 à 50 % après 10 minutes. Les micro-organismes ainsi disséminés dans l'organisme sont rapidement détruits par le système réticulo-endothélial. Néanmoins, à la faveur de conditions favorables, cette bactériémie peut conduire à une infection focale.

Parallèlement, le passage trans-tissulaire spontané des bactéries est reconnu. Il est établi que les pathogènes parodontaux dits « opportunistes », quand ils induisent la maladie, utilisent des stratégies de virulence similaires à plusieurs pathogènes intestinaux et respiratoires, basées sur l'invasion cellulaire. La capacité pour certains pathogènes parodontaux tels que *Actinobacillus actinomycetemcomitans* et *Porphyromonas gingivalis* à envahir la cellule épithéliale gingivale a été démontrée. L'aptitude à la transcytose pour *A. actinomycetemcomitans* est également établie. Une fois internalisée, la bactérie est ainsi capable de franchir la membrane cytoplasmique des cellules adjacentes et de reproduire un cycle infectieux, sans jamais utiliser la voie extracellulaire, ce qui la maintient à l'abri des systèmes de défense immunitaire de l'hôte. Dans le cas de *P. gingivalis*, l'hypothèse d'une voie paracellulaire de contamination est émise. En effet, ce pathogène possède des protéases capables de cliver les protéines constitutives des tight-jonctions (occludine, E-cadhérine) ce qui lui permettrait de franchir la barrière épithéliale et d'atteindre le tissu conjonctif sous-jacent. *P. gingivalis* est également décelé chez des patients atteints de péritonite ou d'appendicite ; quand on sait que la niche écologique initiale de ce pathogène est la cavité buccale, un mode de propagation par voie salivaire peut être suggéré, mais la résistance de la bactérie à l'acidité gastrique paraît peu vraisemblable. Des travaux plus récents ont d'ailleurs mis en évidence la bactérie au sein de cellules endothéliales des artères coronaires, directement à partir desquelles elle serait disséminée dans la circulation sanguine.

Les infections bactériennes à porte d'entrée buccale

Manifestations cérébrales et neurologiques

L'atteinte du système nerveux à partir d'un foyer oral semble assez rare, mais les conséquences peuvent être extrêmement graves. Les bactéries de la cavité buccale peuvent gagner le cerveau par différentes voies, ou à partir d'un foyer infectieux extra-oral mais d'origine dentaire. Des abcès du cerveau ont été observés suite à une bactériémie d'origine dentaire. Des bactéries telles que *Haemophilus aphrophilus* et *A. actinomycetemcomitans* ont une prédilection pour le système nerveux, mais d'autres bacilles à Gram négatif sont également isolés (*F. nucleatum*, *Prevotella oralis* et *melaninogenica*). On y observe aussi des cocci à Gram positif (*Streptococcus intermedius*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) et des bacilles à Gram positif (*Actinomyces meyeri*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces odontolyticus*). De la même façon, les foyers infectieux oraux peuvent donner lieu à des thrombophlébites septiques, qui concernent les veines faciale, frontale ou ophtalmique mais également intracrâniennes. Abcès cérébral, méningite et lésions nerveuses sont des complications possibles de ces thromboses veineuses d'origine septique. Les abcès épiduraux se constituent entre l'os et la dure-mère. Ils sont le plus souvent polymicrobiens, incluant des staphylocoques, des streptocoques, des bacilles à Gram négatif et des anaérobies. Les abcès sous-duraux sont des collections purulentes formées entre la dure-mère et l'arachnoïde. Ils sont rapidement extensifs. La flore bactérienne qui leur est associée est similaire à celle des précédents. Les abcès cérébraux siègent quant à eux dans le parenchyme cérébral et font suite, le plus souvent, à un foyer chronique d'infection oto-rhino-laryngologique ou stomatologique (sinusite, otite, foyer dentaire...). En général, ces abcès se localisent au niveau des lobes temporaux (42 %) et du cervelet (30 %). Une fois sur deux, l'infection initiale se situe au niveau de l'oreille moyenne, des sinus paranasaux, de l'oropharynx ou de l'odonte. Ils sont également le plus souvent polymicrobiens. *S. milleri* est très fréquemment isolé, associé à des staphylocoques, des bacilles à Gram négatif et des germes anaérobies.

Parallèlement, les auteurs s'accordent sur le fait que la maladie parodontale est un facteur de risque des accidents vasculaires cérébraux. Selon l'étude de Morisson et *al.*, en 1999, le risque relatif entre ischémie cérébrale et gingivite sévère est de 1,14 et entre ischémie cérébrale et parodontite de 1,32. Cependant, l'augmentation du risque relatif de présenter un accident vasculaire cérébral fatal en présence d'une atteinte parodontale n'est pas significative. À l'inverse, l'étude de Wu en 2000, rapporte un risque relatif de 2,14 d'avoir un accident vasculaire cérébral fatal chez les sujets atteints de parodontite.

Enfin, il est aussi rapporté des lésions neuronales d'origine orale. Les toxines libérées par les micro-organismes de la cavité buccale; *P. melaninogenica*, *P. oralis*, *Eikenella corrodens*, *Actinomyces viscosus*, *S. mutans*, *S. aureus* peuvent atteindre le ganglion trigéminal et être à l'origine de névralgies trigéminales idiopathiques, de névralgies faciales atypiques et de syndromes de douleurs chroniques à distance, localisées au niveau des membres notamment. La destruction neuronale concerne préférentiellement la gaine de myéline.

Maladies cardiovasculaires

Les cardiopathies ischémiques

Les lésions infectieuses chroniques de la cavité buccale telle que la parodontite, favorisent les maladies cardiovasculaires par action sur l'athérogenèse. Des études épidémiologiques de plus en plus

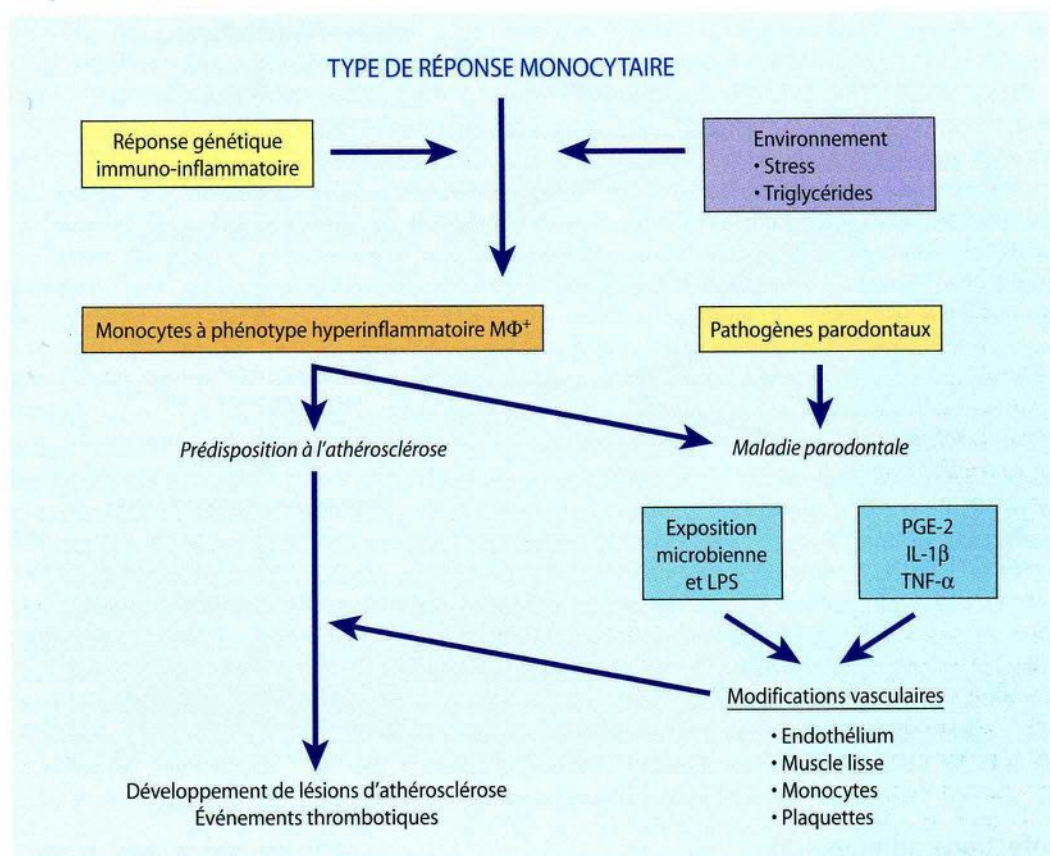
nombreuses suggèrent que la maladie parodontale serait un facteur significatif dans la survenue des cardiopathies vasculaires. Offenbacher et *al.* ont émis, en 1999, la notion de « syndrome parodontothrombotique » selon laquelle infection parodontale et athérosclérose partageraient un « terrain commun ». L'athérosclérose est une dégénérescence progressive des artères, principalement des artères coronaires, entraînant des lésions cardiaques d'origine ischémique dont en particulier l'infarctus du myocarde. Le mécanisme par lequel les bactéries de la cavité buccale augmentent le risque d'accidents cardiovasculaires est complexe, mais un état buccal infectieux créé des conditions où les pathogènes et le processus inflammatoire vont induire des effets néfastes au niveau systémique. L'arrivée massive de cellules inflammatoires dans les vaisseaux sanguins, avec une production accrue d'IL-1 et de TNF α , contribue à l'épaississement de la paroi artérielle. La plaque d'athérome est initiée par l'accumulation de lipides, ester du cholestérol dérivé de lipoprotéines de faible densité (LDL) et de protéines plasmatiques (fibrine et fibrinogène). Or, il surviendrait des phénomènes oxydatifs intéressant les LDL lors de leur passage dans l'environnement toxique représenté par les capillaires des tissus buccaux infectés. D'autre part, la bactériémie induit, sous l'effet du LPS et des bactéries proprement dites, une activation hépatique (par le biais de l'IL-6 et du TNF α), d'où une augmentation du fibrinogène, de l'haptoglobine, de l'alpha-1-antitrypsine et de la protéine C réactive ou CRP. Cette dernière est associée à un accroissement du risque d'infarctus du myocarde. Parallèlement, des pathogènes buccaux tels que *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* et *A. actinomycetemcomitans* ont été détectés dans des athéromes humains. L'aptitude de *P. gingivalis* à envahir activement les cellules endothéliales par le biais de ses fimbriae est avérée. Les germes de la cavité buccale peuvent aussi agir sur la coagulation. *S. sanguinis* et *P. gingivalis* sont capables de provoquer une activation plaquettaire et leur agrégation par l'expression d'une « Collagen-like PAAP » (Platelet Aggregation-Associated Protein), participant ainsi à la formation du thrombus. Ces bactéries abondantes au sein du biofilm endobuccal auraient des propriétés thrombogéniques chez l'homme et exerceraient cet effet lors de bactériémies. Elles contribueraient alors au développement des lésions végétatives d'endocardites et par la formation de thrombus, augmenteraient le risque d'infarctus du myocarde.

En dernier lieu, une susceptibilité génétique est suggérée. Alors que les cytokines semblent jouer un rôle tout aussi important dans le processus d'athérosclérose et dans la pathogénie parodontale, un phénotype spécifique, le M Φ caractérisé par une production monocyttaire plus élevée d'IL-1 β et de TNF α , peut constituer un lien entre les facteurs de risque pour la parodontite destructrice et les maladies cardiovasculaires (Figure 3.50).

Les cardiopathies infectieuses

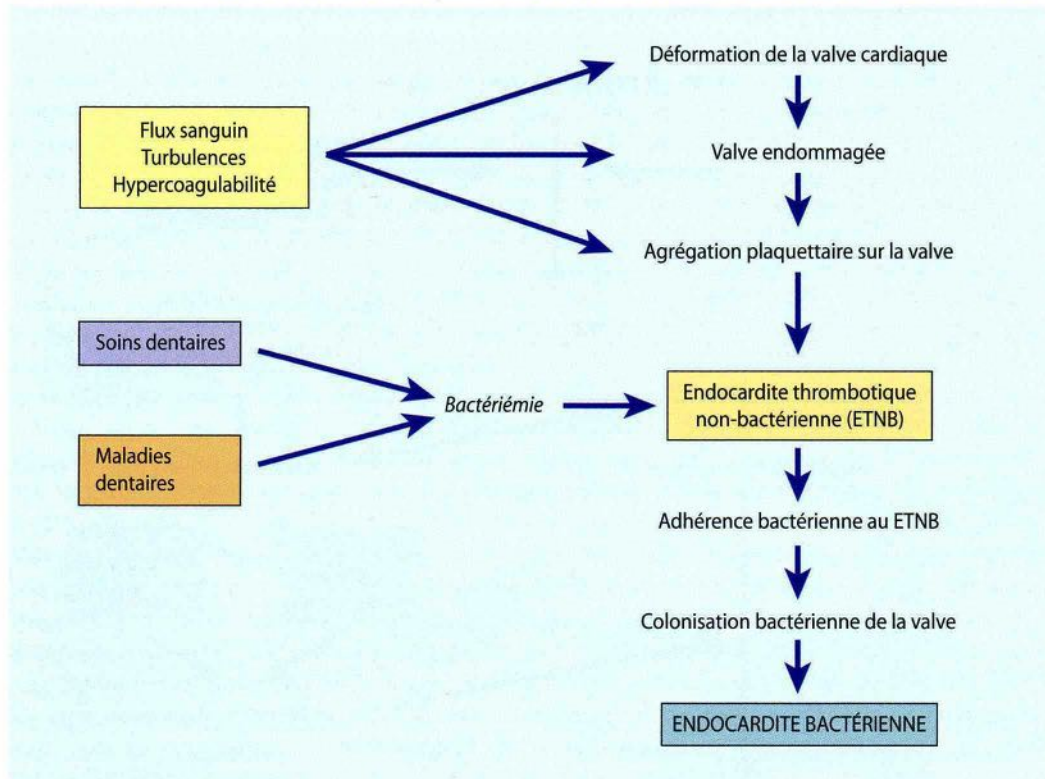
Il est généralement admis qu'une bactériémie est un prérequis pour le développement d'une endocardite infectieuse. Le passage des bactéries dans la circulation sanguine peut se faire soit dans des conditions dites spontanées lors de la mastication ou du brossage dentaire, soit dans des conditions dites iatrogènes ou induites par des interventions au niveau de sites à risque. Les auteurs s'accordent à l'heure actuelle sur la grande nocivité des bactériémies spontanées, répétées et cumulatives dans la genèse des endocardites infectieuses. Il semble que l'importance de l'inflammation gingivale et la sévérité de la parodontite influencent la fréquence des bactériémies. Ces bactériémies passant totalement inaperçues et fréquemment répétées pourraient avoir un effet cumulatif et conditionner fortement les valves cardiaques à l'adhérence et à une colonisation bactérienne ultérieure. Il est clair que les gingivites et les parodontites non traitées, liées à l'augmentation de la charge bactérienne et/ou à la présence de pathogènes spécifiques, constituent un facteur de risque lors des bactériémies engendrées par la mastication ou le brossage. L'endocardite infectieuse décrite par Osler en 1885 se définit comme la conséquence d'une greffe bactérienne ou fongique sur l'endocarde. La lésion initiale se caractérise

Figure 3.50 : modèle étiopathogénique de la relation entre infections parodontales et maladies cardiovasculaires, selon Beck et al., 1998.



par un dépôt fibrinoplaquettaire stérile dû en général à un traumatisme, des turbulences ou des modifications métaboliques. Le germe bucco-dentaire est véhiculé par voie sanguine jusqu'au cœur. L'adhésion des bactéries au thrombus est suivie de leur multiplication initiant une concentration d'infection intravasculaire. Certaines bactéries ont la capacité d'adhérer aux structures cardiaques, plus développées que d'autres, de par leur production de dextranes et de polysaccharides. Les bactéries du biofilm buccal présentent ainsi un important potentiel d'adhérence, ce qui accroît leur pathogénicité dans ce contexte. C'est notamment le cas des streptocoques oraux qui synthétisent des lévanes et des dextranes. C'est ainsi que dans 50 % des cas, les endocardites infectieuses sont dues à des streptocoques non groupables typiques de la cavité buccale ; streptocoques α -hémolytiques, *S. sanguinis* et *S. mitis*. Certains bacilles à Gram négatif à localisation buccale ont été également impliqués tels que *P. melaninogenica* et *F. nucleatum*. Le groupe HACCEK comprenant *Haemophilus influenzae*, *A. actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Capnocytophaga ochracea*, *Eikenella corrodens* et *Kingella kingae* est aussi fréquemment à l'origine d'endocardites infectieuses (Figure 3.51). L'endocardite infectieuse peut survenir sur un cœur sain ou une valvulopathie préexistante. Toute prothèse insérée au niveau du cœur constitue aussi un site susceptible à la colonisation par des germes pathogènes.

Figure 3.51 : modèle étiopathogénique des endocardites associées à la sphère buccale, selon Drangsholt, 1998.



Infections pulmonaires

Les maladies pulmonaires sont causées par des bactéries anaérobies, dont 40 % sont isolées au sein du biofilm buccal. Ce dernier peut ainsi être considéré comme un réservoir de pathogènes. Des études ont d'ailleurs associé la pneumonie bactérienne, les maladies chroniques obstructives (bronchite chronique et emphysème) et l'abcès pulmonaire aux infections parodontales. Si la pneumonie initiée par des pathogènes commensaux peut se traiter efficacement par antibiothérapie, la pneumonie nosocomiale est beaucoup plus difficile à éradiquer. Cette pneumonie affecte 10 à 20 % des patients hospitalisés. La colonisation oropharyngée par des bacilles à Gram négatif augmente chez les patients suivis en soins intensifs et la prévalence des pathogènes respiratoires potentiels comme *S. aureus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* est plus forte chez les patients souffrant de lésions parodontales. Les maladies chroniques obstructives se caractérisent par une obstruction chronique des voies aériennes. Comme une corrélation entre la prévalence de bronchite chronique et celle de pertes d'attache est parfaitement établie, une relation de cause à effet entre la diminution de la fonction pulmonaire et l'augmentation de la perte d'attache ne peut être niée. Enfin, l'isolement de bactéries d'origine buccale telles que *P. intermedia*, *F. nucleatum* et autres espèces appartenant au genre *Bacteroides* (*fragilis* et *ureolyticus*), *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* et *Veillonella* dans les infections respiratoires, prouve qu'il existe bien un lien entre les bactéries parodontopathogènes et l'abcès pulmonaire.

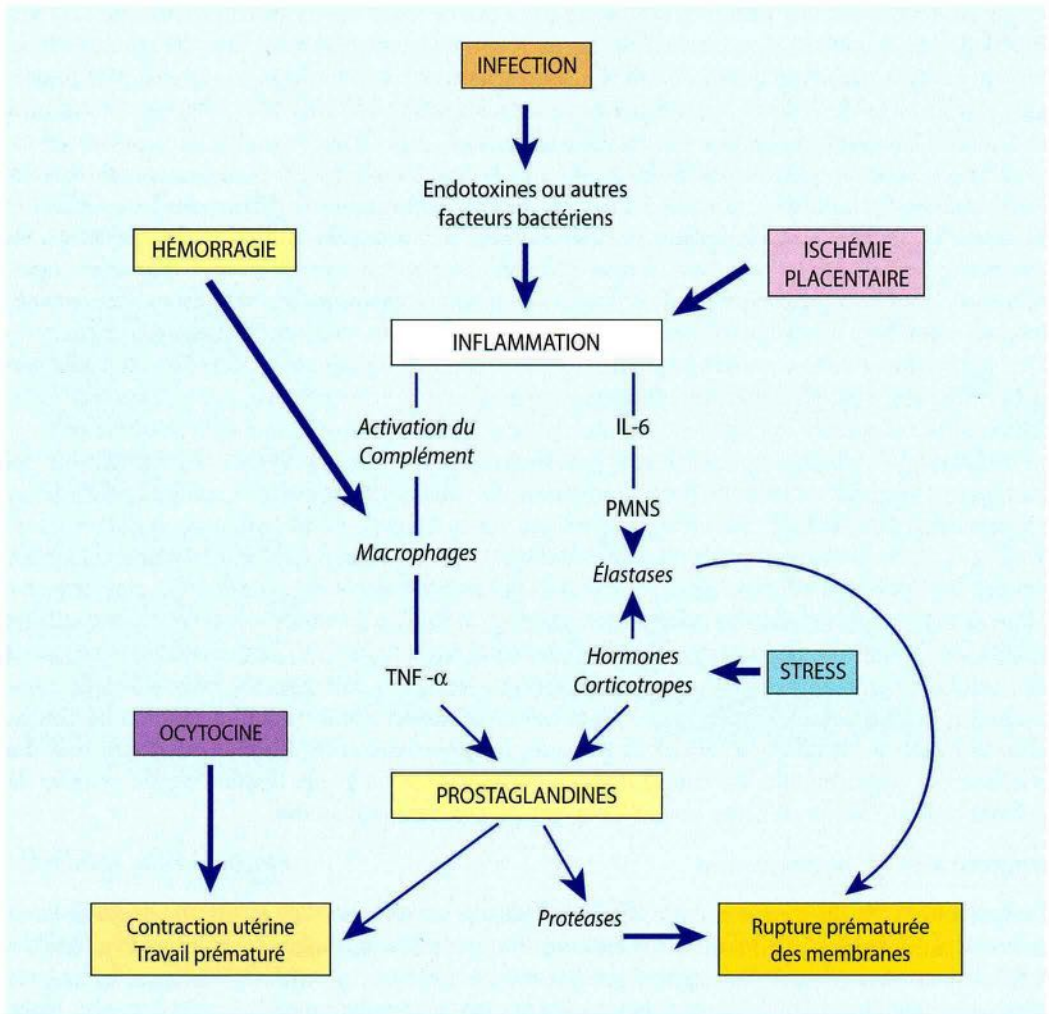
L'état bucco-dentaire a un impact sur l'initiation et/ou la progression des maladies pulmonaires. Le risque de développer une pneumonie lorsqu'il n'y a pas de soins bucco-dentaires actifs est 1,67 fois supérieur par rapport à une situation où des soins sont apportés. Diverses voies de contamination sont probables, mais l'aspiration du contenu buccal est certainement le mécanisme le plus important : les bactéries de la cavité buccale peuvent passer du biofilm aux sécrétions salivaires, être aspirées et coloniser l'appareil respiratoire profond. Généralement, chez l'homme adulte, les bactéries retrouvées dans le poumon proviennent de l'aspiration de la flore oropharyngée et de son passage dans les voies respiratoires profondes, associée à une incapacité des mécanismes de défense de l'hôte à éliminer les bactéries, lesquelles se multiplient dans le poumon et provoquent l'infection. Parallèlement, les enzymes produites par les micro-organismes du biofilm supra- ou sous-gingival (mannosidase, hexaminidase, sialidase...) se retrouvent dans la salive et modifient la surface des muqueuses. Ces enzymes lytiques modifient notamment la fibronectine et d'autres composants des muqueuses respiratoires avec pour effet la mise à nu de récepteurs pour les adhésines bactériennes. Ceci favorise l'adhésion et la colonisation par les bactéries pathogènes respiratoires. On constate ainsi, une altération de l'épithélium des muqueuses respiratoires chez des patients atteints de parodontite avec une flore riche en spirochètes et *P. gingivalis*, pour lesquels l'activité protéasique est importante. Secondairement, les bactéries pathogènes de la cavité buccale stimulent les cellules du parodonte (cellules épithéliales et endothéliales, fibroblastes, macrophages et cellules immunitaires). La libération de cytokines (IL-1, TNF α , IL-6, IL-8) qui en découle modifie l'expression des molécules d'adhésion cellulaire à la surface des cellules épithéliales et favorise la colonisation par les pathogènes respiratoires. De plus, les cytokines libérées par les cellules buccales peuvent gagner l'appareil respiratoire et stimuler à leur tour les cellules de l'épithélium respiratoire, lesquelles libèrent d'autres cytokines. Ces dernières recrutent alors des cellules inflammatoires telles les neutrophiles, qui relarguent des enzymes responsables de dommages sur l'épithélium, favorables à la colonisation bactérienne. Enfin, l'accumulation du biofilm au sein de la cavité buccale peut altérer la pellicule salivaire protectrice. En effet, la destruction des mucines par augmentation du taux d'enzymes lytiques conduit à une diminution du système de défense non spécifique de l'hôte contre les agents pathogènes respiratoires.

Prématurité et hypotrophie

La littérature spécialisée moderne est riche en études qui confirment l'incidence des atteintes parodontales sur la naissance d'enfants de petit poids (on parle d'hypotrophie pour un poids inférieur à 2,5 kilogrammes) et sur les accouchements prématurés (inférieur ou égal à 37 semaines d'aménorrhée). La physiologie de l'inflammation associée aux atteintes parodontales apparaît l'une des causes de ce phénomène. La parturition, comme tout processus physiologique, est soumise à l'action de diverses molécules, notamment certaines hormones (ocytocine, œstrogène et progestérone) et certaines cytokines (PGE2 et PGF2). Les prostaglandines seraient à l'origine de la synthèse de l'ocytocine au niveau du lobe post-hypophysaire.

Cependant, les facteurs étiologiques de l'accouchement prématuré demeurent multiples ; outre la prédisposition génétique et/ou sociale, le stress favorise la libération d'hormones corticotropes anté-hypophysaires (l'adrénocorticotrophine) qui induit la synthèse de prostaglandines. L'accident hémorragique chez la mère, s'il induit une hypoxie fœtale, va entraîner une mobilisation importante des macrophages. Ces derniers produisent alors du TNF- α , qui provoque la libération de prostaglandines. De la même façon, les affections bactériennes de la cavité buccale peuvent influencer le déclenchement de la parturition ; elles sont une source de composants bactériens, le LPS notamment, qui stimulent la libération de médiateurs de l'inflammation comme PGE2 et TNF- α , au niveau

Figure 3.52 : modèle étiologique de production accrue des prostaglandines 2, selon Lockwood, 1995.



placentaire, avec déclenchement du travail prématuré. Il faut toutefois souligner que ce sont les infections urogénitales qui en constituent l'étiologie majeure. Le parodonte infecté se comporte comme une source « endocrine-like » de cytokines délétères et de médiateurs lipidiques. Un taux significativement plus élevé de quatre pathogènes parodontaux : *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* a été montré dans les cas d'accouchements prématurés.

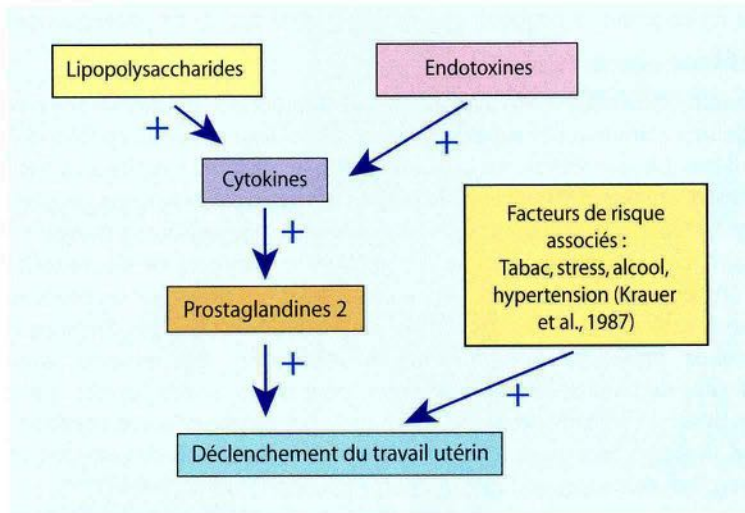
En résumé, quelle que soit l'origine de l'infection, la rupture de la membrane chorio-amniotique à l'origine de la parturition est liée à l'action combinée des produits bactériens, le LPS essentiellement, et des médiateurs de l'inflammation. En effet, les produits bactériens entraînent la sécrétion de médiateurs tels que PGE2, IL-6 et TNF- α , par les macrophages et les cellules amniotiques capables de franchir la barrière placentaire (Figure 3.52).

Pourtant, comme cela a été exposé en amont, l'aptitude des pathogènes oraux à exercer leur pouvoir pathogène à distance résulte de différents procédés. En premier lieu, une colonisation du tractus

génital par voie vasculaire ne peut être négligée, alors que parallèlement une contamination par voie oro-génitale n'est pas à exclure. En second lieu, indépendamment du transfert à distance des pathogènes oraux ou de leurs produits, les médiateurs de l'inflammation, libérés massivement localement, peuvent migrer par voie sanguine jusqu'au complexe fœto-placentaire, où ils peuvent déclencher la parturition prématurée. Enfin, la prolifération au sein du tractus génital des bactéries à Gram négatif d'origine buccale est favorisée par l'altération des défenses immunitaires locales. Les polynucléaires neutrophiles répondent au chimiotactisme du LPS et se concentrent dans la sphère buccale, sur les sites infectés.

L'action combinée des différents processus d'origine infectieuse expliquerait l'influence des pathogènes oraux sur la prématurité et l'hypotrophie fœtale. Il faut malgré tout souligner que le plus souvent, plusieurs facteurs de risque y sont associés tels que le stress, des conditions socio-économiques défavorables, le tabac, l'alcool et le jeune âge des parturientes (Figure 3.53).

Figure 3.53 : infections parodontales et accouchement prématuré – Mécanisme supposé selon Gibbs, 1992.



Autres affections systémiques

Les affections hépatiques et rénales

Le LPS bactérien systémique active les macrophages au niveau hépatique et augmente le nombre de cellules inflammatoires au sein du parenchyme hépatique, notamment les lymphocytes et les plasmocytes. Une corrélation entre la présence de germes pathogènes dans la cavité buccale et des lésions histologiques au niveau du parenchyme hépatique est établie chez le chien.

De la même façon, le LPS présent dans la circulation sanguine, stimule le système des monocytes/macrophages au niveau du mésangium glomérulaire rénal. L'épaississement du mésangium est interprété comme étant une altération faisant intervenir des complexes immuns. L'augmentation des cellules inflammatoires dans le tissu interstitiel stimule la libération de médiateurs de l'inflammation, participant à l'étiopathogénie de ces glomérulonéphrites bactériennes consécutives aux bactériémies d'origine buccale.

Les atteintes articulaires et osseuses

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie inflammatoire chronique qui se caractérise par une destruction des tissus mous et durs. Des études épidémiologiques indiquent que les sujets atteints de maladie parodontale modérée à sévère présentent un risque accru de développer une polyarthrite rhumatoïde.

Parallèlement, des ostéomyélites associées à la présence de *A. actinomycetemcomitans* et *Eikenella corrodens* ou *F. nucleatum* ont également été rapportées. *A. actinomycetemcomitans* est, de la même façon, largement impliqué dans l'étiologie de la maladie de Paget; affection qui se manifeste par une résorption osseuse excessive suivie d'une activité ostéoblastique désordonnée qui conduit à la formation abondante d'os néoformé de structure anormale et fragile. *A. actinomycetemcomitans* atteignant le tissu osseux par bactériémie infecterait les ostéoclastes et modifierait leurs fonctions. Il pourrait également stimuler la production des ostéoclastes.

Enfin, les implants articulaires, les prothèses de hanche notamment, prédisposent au développement de processus infectieux. Ainsi, des infections en relation avec une infection dentaire ou parodontale peuvent survenir à la suite de chirurgies articulaires. Les germes provenant de foyers infectieux oraux pénètrent dans les structures articulaires par bactériémie ou après une phase septicémique.

Les manifestations oculaires

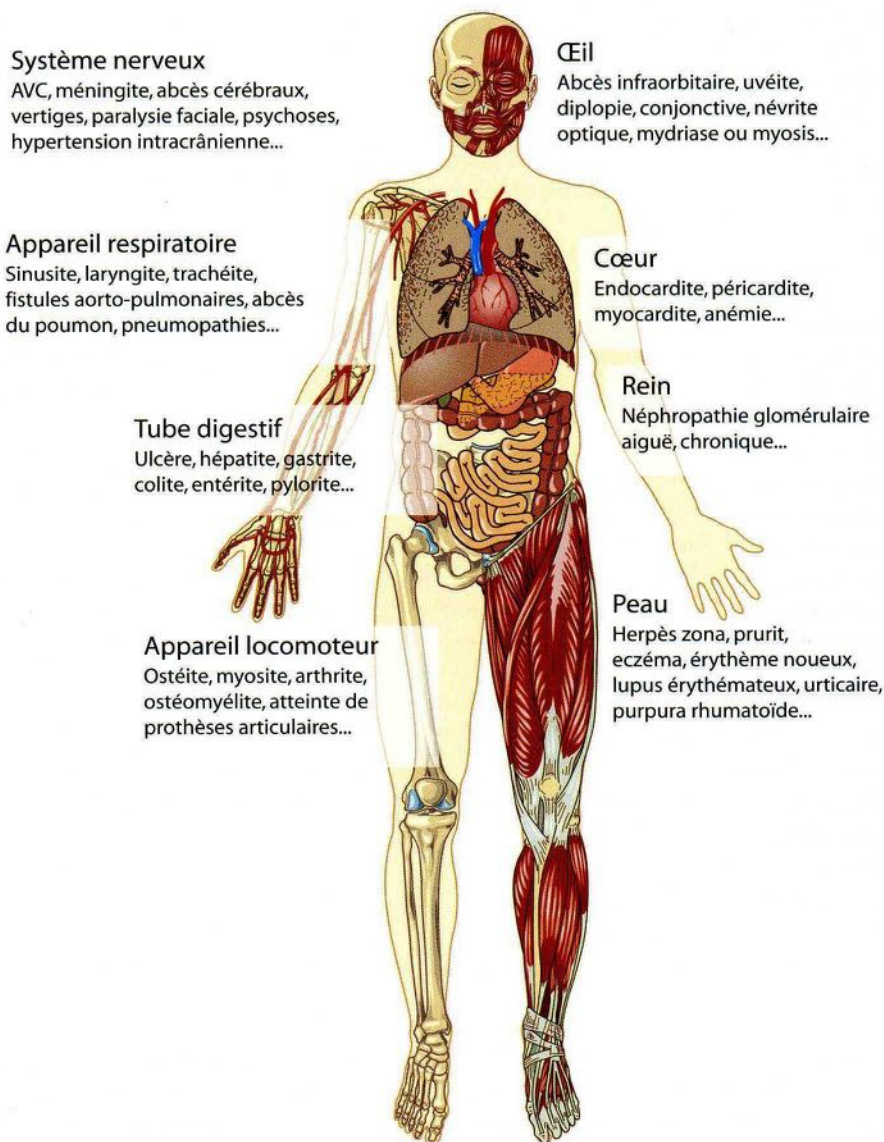
Les lésions odonto-stomatologiques infectieuses ou à potentiel infectieux (foyers dentaires, péri-apicaux, les atteintes parodontales superficielles ou profondes) sont susceptibles d'être responsables d'atteintes oculaires. Les manifestations oculaires d'origine dentaire s'expliquent par la proximité des racines des molaires et prémolaires maxillaires, avec l'orbite et par la richesse des connexions vasculo-nerveuses entre les sphères maxillaire et orbitaire. De plus, le maxillaire participe à la formation du plancher orbitaire. L'essaimage vers l'orbite des pathogènes dentaires est alors possible par voie périostée, osseuse ou veineuse directe, plus rarement par voie artérielle. Les atteintes oculaires peuvent être des infections orbitales avec des abcès, une exophtalmie. Parfois, un chémosis ou une conjonctivite hyperhémisée précèdent l'exophtalmie inflammatoire. On observe aussi des atteintes périorbitaires à type de blépharites, dacryocystites, péricystites. Il peut exister une ptôse palpébrale ou une lagophtalmie si l'inflammation est chronique. Un épiphora muco-purulent a également été décrit. Certains antigènes bactériens oraux conduisent à la formation de complexes immuns, à l'origine d'uvéite avec inflammation de l'iris, des corps ciliaires et de la choroïde.

Des manifestations neuro-ophtalmologiques (affections des nerfs crâniens II, III, IV, VI, du nerf lacrymal et du nerf ciliaire) peuvent faire suite à un abcès péri-apical au niveau des dents maxillaires caudales. Cela peut mener à une inflammation du nerf optique, une dégénérescence rétinienne rétrograde, une anisocorie, un strabisme, une diminution de la production de larmes et donc une kératoconjonctivite sèche. Une atteinte du parodonte suppurée ou une nécrose dentaire peuvent être à l'origine de neuropathies optiques par ralentissement ou arrêt du transport axonal. Il semblerait qu'une réaction immunitaire soit à l'origine de ces phénomènes inflammatoires. Un afflux de cellules lymphoïdes au niveau de l'œil se produirait suite à la diffusion par voie sanguine de l'antigène bactérien.

À côté de ces diverses infections systémiques d'origine buccale, des manifestations dermatologiques (inflammation focale, phénomènes immuno-allergiques), des atteintes musculaires, ainsi que des fièvres inexpliquées sont également décrites. Alors que la dissémination bactérienne à point de départ buccal est clairement établie, les effets à distance d'une infection dentaire ou parodontale sont très

vastes et peuvent s'avérer extrêmement dommageables (Figure 3.54). Les micro-organismes de la cavité buccale apparaissent alors comme des agents infectieux potentiels pour l'ensemble de l'organisme. La prise en charge thérapeutique des affections odonto-stomatologiques constitue de ce fait un facteur de santé publique indéniable.

Figure 3.54 : infections focales d'origine buccale chez l'homme (schéma récapitulatif).



Références bibliographiques

- Amarenco P : Accidents vasculaires cérébraux : épidémiologie, étiologie, physiopathologie, diagnostic, évolution, traitement. *La revue du Praticien* 1998; 48 : 1939-1952.
- Beck JD, Elter JR, Heiss G, Couper D, Mauriello SM, Offenbacher S : Relationship of periodontal disease to carotid artery intima-media wall thickness, the atherosclerosis risk in community (ARIC) study. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology* 2001; 21 (11) : 1816-1822.
- Brion JP, Pison C : Bronchites aiguës et pneumopathies infectieuses aiguës y compris nosocomiales. *La revue du Praticien* 1999; 49 : 653-665.
- Dickinson CJ : Mouth bacteria as the cause of Paget's disease of bone. *Medical Hypotheses* 1999; 52 : 209-212.
- Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach MD, Swett RL : A review of premature birth and sub-clinical infection. *American Journal of Obstetric and Gynecology* 1992; 166 : 1515-1528.
- Haynes C, Sparrow D, Cohen M, Vokonas PS, Garcia RI. The association between alveolar bone loss and pulmonary function : The VA dental longitudinal study. *Annales of periodontology* 1998; 3 : 257-261.
- Kinane DF, Lowe GD : How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. *Periodontology 2000* 2000; 23 : 121-126.
- Lockhart PB : The risk for endocarditis in dental practice. *Periodontology 2000* 2000; 23 : 127-135.
- Lockwood C : The diagnosis of preterm labor and the prediction of preterm delivery. *Clinical Obstetrical Gynecology* 1995; 38 : 675-737.
- Loesche WJ : The relationship between dental disease and cerebral vascular accident in elderly united states veterans. *Annales of Periodontology* 1998; 3 : 161-174.
- Mattila KJ, Askainen S, Wolf J, Jousimies-Somer H, Valtonen V, Nieminen M : Age, dental infections and coronary heart diseases. *Journal of Dental Research* 2000; 79 : 756-760.
- Mealey BL : Influence of periodontal infections on systemic health. *Periodontology 2000* 1999; 21 : 197-209.
- Meyer MW, Gong K, Herzberg MC : Streptococcus sanguis-induced platelet clotting in rabbits and hemodynamic and cardiopulmonary consequences. *Infection and Immunity* 1998; 66 (12) : 5906-5914.
- Morrison HI, Ellison LF, Taylor GW : Periodontal disease and risk of fatal coronary heart and cerebrovascular diseases. *Journal of Cardiovascular risk* 1999; 6: 7-11.
- Scannapieco FA, Ho AW : A relationship between chronic obstructive pulmonary disease and periodontal disease : analysis of National Health and Nutrition Examination Survey III. *Journal of Periodontology* 2001; 72 (1) : 50-56.

Les antibiotiques et les antiseptiques

(H. Chardin, K. Yasukawa, I. Madinier)

Modes d'action des antibiotiques

Les traitements antimicrobiens utilisés pour traiter les infections doivent être actifs contre les micro-organismes et bien tolérés par l'homme. Les bactéries sont des cellules procaryotes qui présentent plusieurs constituants cellulaires qui diffèrent de ceux des cellules eucaryotes (paroi, ribosomes...). Ils constituent donc autant de sites d'action pour des molécules antibactériennes sélectives. Les antibiotiques sont des substances antibactériennes naturelles ou synthétiques. Ils sont classés en différentes familles selon leur nature chimique. Chaque famille possède un site d'action cellulaire et son action est bactériostatique (inhibition de la croissance bactérienne) ou bactéricide (destruction des bactéries) (Tableau 3.27). Le spectre d'action d'un antibiotique se définit comme l'ensemble des espèces sensibles. Si le nombre d'espèces sensibles est élevé le spectre est large, il est étroit si le nombre d'espèces sensibles est limité.

Tableau 3.27 : sites d'action des différentes familles d'antibiotiques.

Site d'action	Famille/molécule	Action	Effet
PAROI	β -lactamines : Pénicillines, Céphalosporines	Bactéricide	Inhibition de l'assemblage du peptidoglycane
	Glycopeptides (vancomycine)	Bactéricide	
RIBOSOME petite sous-unité	Aminosides	Bactéricide	Inhibition de la synthèse protéique
	Tétracyclines	Bactériostatique	
RIBOSOME grande sous-unité	Chloramphénicol	Bactériostatique	
	Macrolides	Bactériostatique	
	Lincosamides	Bactériostatique	
ADN	Quinolones	Bactéricide	Inhibition de l'ADN gyrase
	Nitro-imidazolés		Altération de l'ADN
VOIE MÉTABOLIQUE	Sulfamides	Bactériostatique	Inhibition de la voie des folates
	Triméthoprim	Bactéricide	

Les antibiotiques actifs sur la paroi des bactéries

Deux familles d'antibiotiques sont actives sur la paroi des bactéries : les glycopeptides et les β -lactamines.

Glycopeptides

La vancomycine inhibe une étape très précoce de la formation du peptidoglycane bactérien. Les chaînes polysaccharidiques qui constituent le peptidoglycane sont constituées par la polymérisation d'unités disaccharidiques d'acide N-acétyl muramique et de N-acétyl glucosamine (§ La cellule bactérienne). La vancomycine bloque cette étape de polymérisation.

β -lactamines

Les pénicillines (et aussi les céphalosporines) se lient à des protéines liant les pénicillines (PLP) et inhibent leur action. Ces PLP sont impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la paroi. Lors de la synthèse du peptidoglycane, les chaînes polymérisées d'acide N-acétyl muramique (NaM) et de N-acétyl glucosamine (NaG) sont reliées entre elles par des ponts peptidiques (§ La cellule bactérienne). Cette réticulation se fait grâce à une enzyme : la transpeptidase. La transpeptidase est une PLP située sur la face externe de la membrane plasmique. La fixation de la molécule de pénicilline sur la transpeptidase entraîne une inhibition compétitive de la fonction enzymatique de transpeptidation. La formation du peptidoglycane est alors inhibée puisque les polymères NaM-NaG ne peuvent être reliés entre eux.

Cependant, la transpeptidase n'est pas la seule PLP, cinq autres sont identifiées. Les différentes PLP interviennent dans la synthèse et le renouvellement du peptidoglycane, contrôlant ainsi la morphologie et la division cellulaires. L'action des pénicillines ne se limite donc pas à une action inhibitrice de la formation du peptidoglycane, mais induit également une action lytique par activation d'une autolysine. La fonction normale de cette autolysine est de permettre la séparation des bactéries filles lors de la division cellulaire.

Les antibiotiques altérant la synthèse protéique

Tétracyclines

Les tétracyclines se fixent sur la petite sous-unité du ribosome. Elles inhibent la fixation du complexe ARNt-acide aminé sur le site A du ribosome. Les acides aminés ne sont plus transférés et l'élongation de la chaîne protéique s'arrête.

Aminosides

Les aminosides se fixent sur la petite sous-unité du ribosome. Ils induisent des erreurs de lecture de l'ARNm, les protéines produites deviennent anormales.

Macrolides et lincosamides

Les macrolides se fixent sur la grande sous-unité du ribosome. Ils bloquent l'élongation de la chaîne protéique au cours de la traduction.

Chloramphénicol

Le chloramphénicol se fixe sur la grande sous-unité du ribosome. Il inhibe la peptidyltransférase qui catalyse la réaction de transpeptidation nécessaire à l'élongation de la chaîne protéique.

Les antibiotiques actifs sur l'ADN bactérien

Nitro-imidazolés

Les nitro-imidazolés sont actifs sur les micro-organismes qui possèdent l'équipement enzymatique nécessaire pour les transformer en dérivés toxiques qui altèrent l'ADN en dissociant les brins. Ils sont utilisés comme antibactériens mais aussi comme antiparasitaires.

Quinolones

Les quinolones inhibent l'ADN-gyrase (ou topoisomérase II) bactérienne. Cette enzyme traite le sur-enroulement qui résulte de la séparation des brins d'ADN. Elle sera donc nécessaire lors de la réplication de l'ADN, de la transcription de l'ARN, ou des réparations de l'ADN. Les quinolones bloquent ces différentes étapes.

Les inhibiteurs de la voie des folates

L'acide folique est un composé essentiel à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques constitutives des acides nucléiques. Les bactéries ne peuvent pas utiliser de l'acide folique préformé, elles doivent le synthétiser. Les sulfamides inhibent la synthèse d'acide folique alors que le triméthoprim inhibe son utilisation.

La résistance bactérienne aux antibiotiques

Principes généraux

Acquisition de la résistance

La résistance aux antibiotiques est naturelle ou acquise. On parle de résistance « naturelle » lorsqu'une souche bactérienne est initialement insensible à l'antibiotique, alors que la résistance « acquise » apparaît chez des souches appartenant à des espèces bactériennes initialement sensibles. La résistance acquise apparaît après une mutation ou par le transfert de gènes de résistance entre bactéries. Les gènes de résistance sont portés par le chromosome ou par des plasmides. Les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être transférés entre différentes souches d'une même espèce mais aussi entre espèces ou genres différents, entre bactéries Gram+ et Gram-, entre commensaux et pathogènes. La résistance n'est pas induite par l'antibiotique, mais sélectionnée par lui. Lorsqu'une bactérie résistante n'est pas soumise à la présence de l'antibiotique, sa résistance ne lui confère aucun avantage métabolique. Par contre, lorsque l'antibiotique est présent, les bactéries résistantes possèdent un avantage métabolique et se développent sélectivement. La résistance à un antibiotique est particulièrement inquiétante lorsqu'il s'agit d'une bactérie pathogène. Cependant, l'existence de bactéries résistantes dans les flores commensales est également un réel sujet d'inquiétude car ces flores risquent de constituer de véritables réservoirs de gènes de résistance. Par exemple, le transfert de gènes de résistance entre *S. pneumoniae* et *S. sanguinis*, *S. oralis* et *S. mitis* a été démontré. Ainsi, une augmentation de la résistance des streptocoques commensaux de la cavité buccale est potentiellement dangereuse puisque les gènes de résistance peuvent être transférés à des pathogènes.

Mécanismes de la résistance

Les modalités de la résistance aux antibiotiques comprennent : (1) une modification de la cible bactérienne, (2), une modification ou une dégradation de la molécule d'antibiotique (3) une diminution de la perméabilité à la molécule d'antibiotique et (4) un rejet accéléré de l'antibiotique par une accélération des pompes d'efflux.

Un bon exemple des modes de résistance aux antibiotiques est illustré par les mécanismes de résistance aux pénicillines :

- Résistance par altération de la cible : des PLP modifiées peuvent se substituer aux PLP normales pour la fonction enzymatique et présenter une affinité plus faible pour les pénicillines. Cette altération des PLP peut induire une diminution de la sensibilité aux pénicillines.
- Résistance par dégradation de l'antibiotique : c'est le mode le plus fréquent. Il est dû à la production d'une β -lactamase qui dégrade la pénicilline. Ces β -lactamases sont souvent codées par un plasmide, ce qui permet le transfert de la résistance à d'autres bactéries. Ce mode de résistance peut être contourné par l'association d'un inhibiteur de β -lactamase à la pénicilline. L'acide clavulanique est un inhibiteur compétitif, il agit par analogie structurale.

- Résistance par diminution de la perméabilité cellulaire : elle est retrouvée seulement chez les bactéries Gram-. Pour atteindre les PLP situées sur la face externe de la membrane plasmique, les pénicillines doivent traverser la paroi. Chez les bactéries Gram-, les pénicillines traversent la membrane externe par les canaux formés par les porines. Une modification des porines peut rendre la bactérie imperméable, et donc résistante à l'antibiotique.

La résistance par accélération du rejet de l'antibiotique a d'abord été décrite pour les tétracyclines ; elle est maintenant démontrée pour d'autres antibiotiques, notamment des fluoroquinolones, les macrolides ou le métronidazole. Les pompes d'efflux sont des protéines membranaires de transport qui permettent l'élimination de substances toxiques vers le milieu extracellulaire par flux sortant actif. Elles existent chez les bactéries Gram+ et Gram-. Les gènes codant ces protéines sont retrouvés sur le chromosome ou sur des plasmides. Les pompes d'efflux permettent d'éliminer de nombreux composés toxiques pour la bactérie, y compris des antibiotiques ou des désinfectants.

Facteurs limitant la résistance

La sélection de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques a été observée très rapidement après les premières utilisations de ces molécules. Après de nombreuses années d'utilisation, l'existence de souches de bactéries pathogènes multirésistantes est un problème de santé publique. Il est admis qu'il existe un lien entre la consommation d'antibiotiques et l'émergence des résistances et que la mauvaise utilisation des antibiotiques est la principale cause de la résistance bactérienne à ces médicaments. Optimiser l'utilisation des antibiotiques est un des moyens de gestion du risque d'apparition des résistances et doit être un souci permanent du thérapeute.

La prescription d'antibiotique doit donc suivre des règles strictes :

- Les indications de l'antibiothérapie ou de l'antibioprophylaxie édictées par les autorités sanitaires ou les groupes d'experts doivent être strictement respectées.
- Les doses prescrites ne doivent pas être inférieures aux doses recommandées.
- La durée du traitement doit être la plus courte possible.

L'utilisation d'associations est possible en cas d'infection sévère pour prévenir le risque de résistance, élargir le spectre, augmenter la bactéricidie (endocardites, septicémies, cellulites...). Cependant, l'association d'antibiotiques peut être indifférente ou synergique, mais aussi parfois antagoniste. L'indifférence s'observe lorsque les deux molécules n'ont aucun effet l'une sur l'autre, l'effet global correspond à l'addition des deux effets individuels. La synergie est intéressante dans la mesure où elle doit pouvoir permettre de diminuer les doses, et donc les effets toxiques potentiels. L'antagonisme a été observé dans des cas d'association de pénicilline avec des inhibiteurs de la synthèse protéique, l'association se révélant moins efficace que la pénicilline seule. Il peut être évalué *in vitro*.

Résistances bactériennes et flore buccale

La résistance des streptocoques

Les streptocoques ne produisent pas (ou très exceptionnellement) de β -lactamase. Leur diminution de sensibilité aux pénicillines est habituellement due à une modification des PLP (§ Mécanismes de la résistance). Parmi les streptocoques α -hémolytiques buccaux, *S. mitis* et *S. oralis* sont les espèces les plus résistantes à la pénicilline.

Une étude de 1999 effectuée en France par le Centre national de référence des streptocoques montre que parmi les streptocoques oraux étudiés, 11 % ont une sensibilité intermédiaire à la pénicilline G, 21 % sont résistants à l'érythromycine, 13 % sont résistants à la clindamycine et 5 % sont résistants

à la pristinamycine. Par contre, toutes les souches testées étaient sensibles à l'amoxicilline et aux glycopeptides. Le suivi de la résistance des streptocoques sur la période 1990-1999 montre que ce sont les streptocoques oraux qui ont le plus varié, en particulier pour l'érythromycine et la clindamycine dont la proportion de souches résistantes ne dépassait pas 2% en 1990.

Résistances de la flore sous-gingivale

β -lactamines

Dans la flore orale, ce sont surtout les espèces du phylum des Bacteroidetes, en particulier *Prevotella*, qui présentent des souches résistantes aux β -lactamines. Il s'agit d'une résistance par production de β -lactamases chromosomiques codées par des transposons. Pour la quasi-totalité des souches, il s'agit de la β -lactamase CfxA qui est une céphalosporinase, capable d'hydrolyser la pénicilline et l'amoxicilline mais inhibée par l'acide clavulanique et sensible à la céfoxitine (classe A d'Ambler/groupe 2^e du Bush). Les autres β -lactamases identifiées, très rares, sont CepA et CblA (classe A/groupe 2^e).

Macrolides

La résistance aux macrolides résulte d'une modification de la cible, le ribosome bactérien, par production d'ARNr-méthylase. Ces enzymes modifient un résidu adénine de l'ARN ribosomal 23S de la sous-unité 50S, ce qui empêche la fixation de l'antibiotique. Chez les *Prevotella*, elles sont codées par les gènes *ermA* et *ermF* qui confèrent une résistance croisée pour tous les antibiotiques du groupe MLS_B (macrolides, lincosamides, streptogramine B) (sauf les macrolides 16 C). Dans la flore orale, le gène *ermF* est prédominant. La résistance aux macrolides peut aussi résulter d'un phénomène d'efflux codé par le gène *mef*. Les principales espèces résistantes à l'érythromycine sont *Fusobacterium* et *Capnocytophaga*.

Tétracyclines

La résistance aux tétracyclines résulte d'une modification de la cible, le ribosome bactérien, selon un mécanisme mal connu (gènes *tet M*, *tet O*, *tet B*, *tet S* et *tet Q*), ou d'un efflux actif de l'antibiotique (gènes *tet A* à *tet E*, *tet G*, *tet H* et *tet L*). Les principales espèces résistantes à la tétracycline sont retrouvées dans le genre *Prevotella*.

Nitro-5-imidazolés

La résistance au métronidazole résulte d'une modification de la cible, l'ADN bactérien. Elle est codée par le gène *nim*. Dans la flore orale, tous les Bacteroidetes sont sensibles au métronidazole, sauf *Capnocytophaga* (microaérophile) qui présente une résistance naturelle au métronidazole, et certaines souches de *Fusobacterium* qui portent le gène *nim*.

Antibiothérapie et antibioprophylaxie en odonto-stomatologie

Indications

Les recommandations de prescription des antibiotiques en odonto-stomatologie ont été édictées par l'ANDEM en 1996 et actualisées par l'AFSSAPS en 2001 (<http://www.afssaps.sante.fr>).

Les indications de l'antibiothérapie ou de l'antibioprophylaxie varient selon qu'il s'agit d'un sujet sain ou d'un sujet à risque infectieux connu. Deux groupes de sujets à risque sont définis. Les individus qui présentent un risque A sont des sujets transplantés ou greffés (excepté les patients sous ciclosporine seule), immunodéprimés, atteints d'une pathologie chronique non contrôlée, ou dénutris. Les individus qui présentent un risque B sont les sujets qui présentent un risque d'infection sur un foyer à distance (endocardite infectieuse, infection sur prothèse articulaire).

Antibiothérapie

Selon le rapport de l'AFSSAPS, l'antibiothérapie systémique est indiquée chez le sujet sain, dans les cas suivants : abcès péri-apical, parodontites agressives, parodontite nécrotique, parodontites réfractaires, péricoronarite, cellulites (excepté la forme chronique), ostéites infectieuses (excepté l'alvéolite sèche), stomatites bactériennes, infections bactériennes des glandes salivaires.

Chez les sujets à risque infectieux connu, l'antibiothérapie systémique est indiquée dans tous les cas définis pour le sujet sain, et en plus dans les cas suivants : nécrose pulpaire, traumatismes alvéolo-dentaires compliqués, parodontite chronique, abcès parodontal. Dans le cas d'un risque A, elle est également indiquée lors des parodontites péri-implantaires et au cours de la régénération tissulaire parodontale (actes contre-indiqués en cas de risque B). Dans le cas d'un risque B, il faut ajouter les indications suivantes : desmodontite apicale, gingivite chronique, gingivites associées à la prise de médicaments ou à des maladies systémiques, accidents d'éruption des dents temporaires, alvéolite sèche.

Antibioprophylaxie

L'antibioprophylaxie a pour but de prévenir l'infection post-opératoire du site chirurgical ou la dissémination de l'infection vers un site secondaire. Son indication est limitée aux actes exposant à un milieu septique un site normalement stérile. En chirurgie buccale, les indications de l'antibioprophylaxie sont très limitées chez le sujet sain, elles concernent principalement les chirurgies osseuses en site clos. Ces indications sont élargies lorsqu'un risque infectieux est connu, en particulier chez les patients présentant un risque B, pour lequel la cavité buccale peut constituer une porte d'entrée importante.

Le rapport de l'AFSSAPS recommande l'antibioprophylaxie chez le sujet sain pour les actes suivants : avulsion de dent en désinclusion, transplantation/réimplantation, chirurgie péri-apicale, chirurgie des tumeurs bénignes des maxillaires, chirurgie osseuse, pose d'implant, de matériau de comblement ou de membrane. En cas de risque A, l'antibioprophylaxie est indiquée pour les actes suivants : soins endodontiques, soins prothétiques à risque de saignement, tous les actes chirurgicaux et la pose de bagues orthodontiques. En cas de risque B, l'antibioprophylaxie est recommandée pour les actes suivants : anesthésies locales intraligamentaires, soins prothétiques à risque de saignement, soins parodontaux non chirurgicaux, mise en place d'une digue, soins endodontiques sur dent à pulpe vitale, et tous les actes chirurgicaux qui ne sont pas contre-indiqués.

Choix de l'antibiotique

Le premier critère de choix d'un antibiotique est son efficacité antibactérienne : le spectre d'activité doit inclure l'agent causal. En chirurgie buccale, le choix est généralement probabiliste puisque les infections sont le plus souvent polymicrobiennes et qu'il n'est pas effectué d'antibiogramme préalablement au traitement. Le choix sera donc basé sur les spectres décrits, en tenant compte de l'évolution des résistances connues. Les autres critères de choix prennent en compte la toxicité de la molécule, une allergie ou une intolérance connue, la facilité de prise, le coût...

La monothérapie est la règle en première intention, les associations sont indiquées en cas d'échec ou lors d'infections sévères.

D'après le rapport de l'AFSSAPS, les antibiotiques recommandés en première intention sont l'amoxicilline, les macrolides, les lincosamides, les streptogramines ou les nitro-imidazolés, seuls ou en association avec un macrolide.

Les cyclines ne sont utilisées que dans le traitement de la parodontite agressive localisée.

L'association amoxicilline/acide clavulanique n'est recommandée qu'en deuxième intention.

Les cas d'infections sévères sont traités en milieu spécialisé, avec les mêmes familles d'antibiotiques utilisés par voie parentérale.

La prophylaxie de l'endocardite infectieuse ou de la greffe bactérienne sur prothèse requiert 2 g à 3 g d'amoxicilline, en une seule prise, une heure avant le geste. En cas d'allergie, la clindamycine (600 mg) ou la pristinamycine (1 g) peuvent se substituer à l'amoxicilline.

Les antiseptiques

Les antiseptiques et les désinfectants sont des agents chimiques utilisés pour éliminer les micro-organismes. Les antiseptiques sont utilisés pour traiter les tissus vivants alors que les désinfectants permettent de traiter les surfaces inertes. Dans de nombreux cas, les mêmes substances chimiques sont utilisées, mais avec des conditions d'utilisation différentes. Les antiseptiques doivent présenter une toxicité tissulaire limitée, et les désinfectants ne doivent pas être corrosifs pour les matériaux à traiter. Certaines substances toxiques, comme le glutaraldéhyde, ne sont utilisées que pour la désinfection de matériels qui ne supportent pas les traitements thermiques. Dans tous les cas, leurs conditions d'utilisation sont contraignantes : bacs de trempage fermés, protection de la peau et des muqueuses, rinçages abondants et soigneux.

Les antiseptiques peuvent être utilisés de manière préventive afin de réduire la charge microbienne avant un acte chirurgical, ou de manière curative pour éviter ou traiter l'infection d'une plaie. En odonto-stomatologie, les antiseptiques sont utilisés en bains de bouche ou en applications topiques et pour le traitement des canaux radiculaires avant leur obturation.

Les différentes familles de molécules, leurs effets et leurs spectres d'activités sont résumés dans le tableau 3.28.

Tableau 3.28 : les antiseptiques.

Principe actif	Mode d'action	Spectre d'activité
Halogènes : dérivés chlorés ou dérivés iodés	Oxydation des constituants cellulaires	Bactéricide, fongicide, virucide, sporicide
Alcool éthylique 70 °	Dénaturation des protéines et dissolution des lipides membranaires	Bactéricide, virucide sur virus enveloppé, inconstant sur virus nu et <i>fungi</i>
Ammoniums quaternaires	Rupture des membranes cellulaires et altération des protéines	Bactéricide (Gram+), fongicide, virucide (virus enveloppé), inconstant sur Gram- et virus nus.
Biguanides : chlorhexidine		Bactéricide, fongicide, virucide (virus enveloppés)

A

- Abcès 246
- Abcès apical 244
- Abiotrophia* 52
- Aciclovir 69, 70, 291
- Acide butyrique 47
- Acide clavulanique 317
- Acides gras 27, 35
- Acides lipoteichoïques (LTA) 4
- Acinetobacter* 54
- Actinobacillus* 54
- Actinobacillus actinomycetemcomitans* 39
- Actinomyces* 20, 53, 56
 - *Actinomyces* et caries 228
 - actinomycose 22
- Adenoviridae* 65
- Adhésines bactériennes 150
- Adhésion bactérienne
 - *Fusobacterium* 48
 - mannose d'*A.a.* 42
 - spirochètes 50
- Aérobiose 8
- Agents transmissibles non conventionnels 122-130
- Aminosides 316
- Anaérobiose 8
- Anaerococcus* 55
- Anaeroglobus* 56
- Anaphylatoxines 184, 185, 190
- Antibiogramme 195-197
- Antibiotiques
 - modes d'action 315-317
 - prescription en en odonto-stomatologie 319-321
 - sensibilité et résistance 16, 20, 22, 30, 36, 39, 44, 48, 51, 254, 276, 285, 317-319
- Anticorps, voir Immunoglobulines
- Antifongiques 105, 107-109, 111
- Antiseptiques 321
- Antiviraux 83, 84, 92, 96, 289
- API, voir Galerie d'identification
- Arthropodes 113
 - *Calliphora vicina* 115
 - *Calliphora vomitoria* 115

- *Cochliomyia hominivorax* 115
- Aspergilliose 299
- Aspergillus* 109
- ATNC, voir Agents transmissibles non conventionnels
- Atopobium* 56

B

- β -lactamase 36, 317, 319
- β -lactamines 316
- Bactériémie 304
- Bacteroidaceae* à pigmentation noire (BPN) 266
 - pigment et *Porphyromonas* 25, 28
 - pigment et *Prevotella* 34
- Bacteroides* 58
- Bifidobacterium* 56
- Bio-puces 200
- Biofilm dentaire
 - architecture 155
 - formation 146
- Biofilm 132
 - adhérence 132
 - antagonisme 157
 - buccaux 141
 - communication interspécifique 156
 - exemples 137
 - expression des gènes 158
 - facteurs physico-chimiques 142
 - formation 132
 - maturation 152
 - résistance microbienne 158
 - de l'épithélium buccal 144
 - du dos de la langue 145
 - du sillon gingivo-dentaire 144
- Blastomyces dermatitidis* 107
- Blastomycose 298
- Brown spot* 216
- Bulleidia* 56
- Burkitt, lymphome de 292

C

- Caliciviridae* 97
- Calliphora vicina* 115

Calliphora vomitoria 115
Campylobacter 54
Cancers de l'oropharynx 293
Candida 101
– antifongiques 105
– caractères culturels 102
– habitat 101
– identification 104
– isolement 105
– morphologie 102
– physiopathologie 105
– pouvoir pathogène 104
Candidoses 295
– traitement 297
Capnocytophaga 36-39, 54
Capsule 6, 14, 26, 34
Carie 214, 216
– acidogenèse (voir Glucides) 218
– carie amélaire 216
– carie cémentaire 217
– carie dentinaire 218
– prévention de la carie 233
Cathélicidine 167, 181, 182
Cellules dendritiques 176, 186
Cellules de Langerhans 186
Cellules M 172
Cellules présentatrices d'antigènes 186
Cellulite 244, 245
Centipeda 58
Cestodes 116
Champignons dimorphiques 105
Chloramphénicol 316
Chondroïtine sulfatase 27, 35, 51
Cidofovir 69, 70
Circoviridae 99
Clostridium 56
CLR 178
Co-agrégation interbactérienne 48
Cochliomyia hominivorax 115
Collagénases 27, 35, 51
Complément 184-187
Composés volatils sulfurés 27
Corynebacterium 53
CPA voir Cellules présentatrices d'antigènes 192
Cryptobacterium 56

Cysticercoses 301
Cytomégalovirus humain (HCMV) 74

D

Défensines 167, 175, 182
Dentine 215
Desulfomicrobium 58
Diagnostic bactériologique 194-211
Diagnostic sérologique 211
Diagnostic virologique 211-212
Dialister 58
Dissémination bactérienne 304

E

Echinococcus 116
Écosystème 141
Édulcorants 236
Eggerthella 57
Eikenella 54
ELISA 211
Email 215
Endodonte et région périapicale 239
Endospore 7
Entamoeba gingivalis 119
Enterococcus 52
Epstein-Barr (EBV), virus 72-74, 292
Eubacterium 57
Exclusion immune 165-174

F

Famciclovir 69, 70
Ficoline 185
Filifactor 58
Fimbriae 7, 26, 28, 29, 33, 43
Finegoldia 55
Fistulisation 244
Flaviviridae 92, 99
Flore commensale 141
Flore buccale, tableaux récapitulatifs 52
Flore des caries 224
Flore des infections endodontiques et périapicales 247
– infections endocanalaies avec lésions périapicales 249

- infections secondaires (échecs thérapeutiques) 251
- lésions périapicales 250
- nécrose pulpaire 249
- Flore des maladies parodontales 262
 - bactéries parodontopathogènes 259
 - flore des abcès parodontaux 271
 - flore des gingivites 266
 - flore des maladies parodontales nécrotiques 271
 - flore des parodontites agressives 267
 - flore des parodontites associées à des maladies systémiques ou infectieuses 269
 - flore des parodontites chez les sujets tabagiques 273
 - flore des parodontites chroniques 266
 - flore des parodontites réfractaires 273
 - flore des sillons sains 262
 - flore inhabituelle 273
- Flore des maladies péri-implantaires 279
 - flore de la parodontite péri-implantaire 282
 - flore habituelle d'un biofilm implantaire 279
- Fluide buccal 145
- Fluide gingival 145
- Fluor 233
- Foscarnet 69, 70
- Fructanase 220
- Fructanes 220, 222
- Fructosyltransférase (FTF) 15, 220
- Fusobacterium* 44, 58

G

- Galleries d'identification 18, 33, 36, 38, 45, 195, 196
- GALT = *Gut-Associated Lymphoid Tissues* 166
- Ganciclovir 69, 70
- Gemella* 52
- Gingipaïnes 27, 28
- Gingivo-stomatite herpétique 289-291
- Glucides 219
 - rôle des glucides de l'alimentation 229
 - acidogenèse 219
 - édulcorants (substituts du sucre) 236
 - glucides fermentescibles de l'alimentation 219
 - métabolisme 219
- Glycanes 221
- Glycocalyx 6
- Glycogène-phosphorylase 220
- Glycolyse 230
- Glycopeptide 315
- Glycosyltransférase (GTF) 15, 220
- Granulicatella* 52
- Granulome 245, 246

H

- HAART 84
- Haemophilus* 55
- Helminthes* 115
 - cestodes 116
 - nématodes 116
- Hémagglutinines 26, 33, 50
- Hémolysines (ou toxines cytolitiques) 15, 35
- Hepadnaviridae* 65, 88
- Hépatite A, virus (HAV) 86-88
- Hépatite B, virus (HBV) 88-92
- Hépatite C, virus (HCV) 92-96
- Hépatite Delta, virus (HDV) 96-97
- Hépatite E, virus (HEV) 97-98
- Hépatite G, virus (HGV) 99
- Herpès labial 291
- Herpes Simplex Virus (HSV) 70-72, 289
- Herpes virus
 - caractéristiques générales 65-69
 - dans les maladies parodontales 36, 262, 289
 - traitement 69-70
- Herpesviridae* 65
- HHV-6, 75
- HHV-7, 75
- HHV-8, 75, 293
- Histatines 167, 182
- Histoplasma capsulatum* 106
- Histoplasmosse 297
- Hyaluronidase 27, 51

Hydrogène sulfuré (H₂S) 36

Hypotrophie 309

I

IFN γ 173

IgAs 174

IL-1, 26, 28, 30, 35, 175, 186, 257

IL-2, 173

IL-4, 173

IL-5, 172, 173

IL-6, 26, 28, 30, 35, 172, 173, 186, 257

IL-8, 26, 28, 30, 35, 186

IL-10, 173

IL-13, 173

Immunodéficience humaine

– manifestations buccales associées 293

– virus 77-85

Immunoglobulines

– fonctions 190

– structure 169

Immunoglobulines A sécrétoires 246

– fonctions effectrices 174

– mode de production 170-172

– structure 168-170

Infections bactériennes à porte d'entrée buccale 305

– hypotrophie 309

– prématurité 309

Infections endodontiques et périapicales 239-252

– *Actinomyces israelii* 252

– diagnostic bactériologique 252

– facteurs de virulence des bactéries 242

– traitement et prévention 252

Infections parasitaires 300-303

Infections péri-implantaires 278

– formation d'un biofilm 278

– gingivite et parodontite péri-implantaires 280

Interféron

– IFN α 96

– IFN γ 173

Interleukines, voir IL

K

Kaposi, sarcome de 75, 293

Klebsiella 55

Kyste dentaire 246, 247

Kyste hydatique 302

L

Lactobacillus 17, 54

Lactoferrine 167, 181, 183

Lectines 178, 185

Leishmanias 119

Leishmanioses 303

Leptotrichia 58

Leucoplasie chevelue buccale 292

Lincosamides 316

Lipopolysaccharide (LPS) 5, 6, 26, 34, 38

Lymphocytes B 171, 173, 189

Lymphocytes T, voir T, lymphocytes

Lymphome de Burkitt 292

Lysozyme 167, 180, 184

M

Macrolides 316

Macrophages 29, 186, 257

Maladie carieuse, voir Carie

Maladies parodontales 256

– classification 263

– traitement et prévention 275

MALT = *Mucosa-Associated Lymphoid Tissues* 166

Mannose-Binding Lectin 185

Mastocytes 178

Micro-organisme cariogène, voir Flore des caries 224

Micromonas 55

Micromycètes 101

Mogibacterium 57

Mononucléose infectieuse 74, 292

Moraxella 53

Mucites 38

Mycoplasmes 60

Myéloperoxydase 180

Myiases 300

N

Neisseria 53
 Nématodes 116
 Nitro-imidazolés 316
 NK, cellules 176, 181
 Nod proteins 175, 178

O

Olsenella 57
 Opsonines 184, 186, 190
 Organes lymphoïdes 166, 170
Orthomyxoviridae 65
 Ostéite 244, 245

P

PAMP 26, 29, 177, 179, 186
 Papillomavirus humains (HPV) 76, 295
Papovaviridae 65, 76
Paracoccidioïdes brasiliensis 108
 Paracoccidioidomycose 298
Paramyxoviridae 65
Parascardovia 57
 Parasites eucaryotes 118, 302
 Parodonte 256
 Parodontites, voir aussi Maladies
 parodontales
Parvoviridae 65
 PCR 202-206, 274
 Pellicule acquise exogène 145
 Penciclovir 70
 Pénicillines 316, 317
 Peptidoglycane 4, 5
Peptococcus 55
Peptoniphilus 55
Peptostreptococcus 55
 Peroxydase 167, 180, 184
 Peyer, plaques de 170
 Phagocytes 180
 Phosphatase 27
 Phospholipase 27, 51
Picornaviridae 65, 86
 Pigment et *Porphyromonas* 25, 28
 Pigment et *Prevotella* 34

Polynucléaire neutrophile 29, 35, 43, 176,
 180, 181, 257
 Polysaccharides extracellulaires (PSEC) 15,
 220-222
 Polysaccharides intracellulaires (PSIC) 220-
 222
Porphyromonas 23, 58
 – *P. gingivalis* 262, 266, 267, 269-271
Poxviridae 65
 Prématurité 309
Prevotella 31, 59
 – *P. intermedia* 266, 267, 269, 270, 271
 Prions 124-130
Propionibacterium 57
Pseudomonas 55
 – *aeruginosa* 273
Pseudoramibacter 57
 Puces à ADN 200
 Pulpe dentaire 239
 – défenses pulpaire 243
 – nécrose pulpaire 243
 – pulpite aiguë 243
 – pulpite chronique 243
 Pyophagie 304

Q

Quinolones 316
Quorum sensing 156

R

Reoviridae 65
Retroviridae 65, 77
Rhabdoviridae 65
 Ribotypage 206
Rothia 54
 RT-PCR 202

S

Saccharose 221
 Salive 145, 232
Scardovia 57
Sealants ou résines de scellement des sillons
 235

Selenomonas 59
 Séquençage 207
Shuttleworthia 57
 SIDA, voir Immunodéficience humaine 79-87
Slackia 57
 Sparganose 302
 Spirochètes 49, 60
Spirometra 118
Staphylococcus 52
 Stomatites infectieuses 289
Streptococcus 52

- étude générale 8
- *Streptococcus mutans* 226
- pneumocoques 14
- *Streptococcus pyogenes*
 (= streptocoques du groupe A) 13
- Streptocoques du groupe B 13
- streptocoques du groupe D 14
- streptocoques oraux 9, 10, 14, 52

 Sucres, voir Glucides
 Sulfamides 317
 Superoxyde dismutase 28

T

Taenia 116
Tannerella 59
 Tartre 153-155
 Taxonomie

- *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 39
- *Actinomyces* 20
- *Capnocytophaga* 36
- *Fusobacterium* 44
- *Lactobacillus* 17
- *Porphyromonas* 23
- *Prevotella* 31
- Spirochètes 49
- *Streptococcus* 8

 Tétracyclines 316
 TGF β 171

T, lymphocytes 171, 175

- cytotoxiques 189
- helper 30, 171, 173, 188-190

 TLR 26, 175, 177, 179, 180, 186
 TNF- α 26, 28, 30, 35, 175, 186, 257
Togaviridae 65
Toll-Like Receptors, voir TLR
 Tonsilles 170
 Toxémie 304
 Traitement et prévention des échecs
 implantaires d'origine infectieuse 283
 Transcytose 172, 174
Treponema 60

- *Treponema denticola* 49-51

Trichinella 116
 Trichinose 302
Trichomonas tenax 119
 Triméthoprime 317

V

Vaccin 77, 85, 92
 Vaccin anti-carie 237
 Valaciclovir 69, 70, 291, 292
 Valganciclovir 69, 70
 Vancomycine 315
 Varicelle 291
 Varicelle-zona, virus (VZV) 72, 291
Veillonella 56
 Virus et maladies parodontales 261
 Virus TT 99

W

Waldeyer, anneau de 170
White spot, voir Carie 216

Z

Zona 291
 Zooparasites 113

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants de deuxième et troisième cycles des études odontologiques, ainsi qu'à tous les cliniciens désireux d'approfondir leurs connaissances en infectiologie orale.
Il se présente en trois parties distinctes.

La première partie décrit les **principaux micro-organismes** d'intérêt en odontostomatologie. Les bactéries, les virus, les parasites et les prions sont détaillés avec leurs caractéristiques biologiques et physiopathologiques.

La seconde partie explique **l'écosystème buccal**, en particulier la constitution de la flore buccale et son évolution, la formation et la physiopathologie des biofilms buccaux et les interactions flore-hôte.

La troisième partie est consacrée à la **microbiologie clinique**. Elle traite les aspects biologiques et cliniques des infections bactériennes dentaires (carie), endodontiques, parodontales et péri-implantaires, et des stomatites virales, fongiques et parasitaires.

Les **traitements anti-infectieux** utilisés en odonto-stomatologie sont exposés, ainsi que les **aspects méthodologiques et pratiques du diagnostic microbiologique**.

